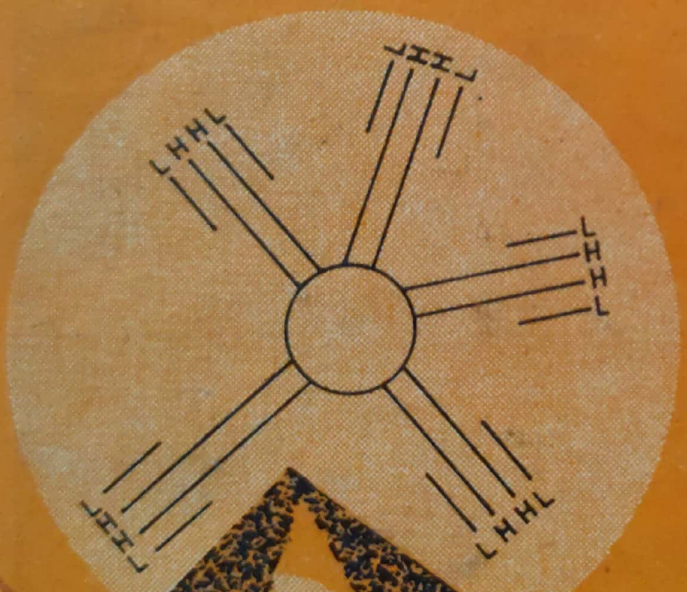
NICOLAE RADU • CONSTANTIN VOICULESCU

Probleme de IMUNOPATOLOGIE CHIRURGICALĂ



Scanned with OKEN Scanner

NICOLAE RADU
medic primar, şef secţie ATI,
doctor în ştiinţe medicale

CONSTANTIN VOICULESCU
conferenţiar universitar
Microbiologie-Imunologie

Probleme de
IMUNOPATOLOGIE CHIRURGICALĂ

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII SOCIALISTE ROMÂNIA
Bucureşti, 1984

Scanned with OKEN Scanner

CUPRINS

PREFAŢĂ 11

1. NOŢIUNI FUNDAMENTALE DE IMUNOLOGIE 13

1.1. Istoric. Dezvoltarea gîndirii imunologiee 13

1.1.1. Perioada empirică 13
1.1.2. Perioada ipotetică 14
1.1.3. Perioada pasteuriană 14
1.1.4. Perioada modernă 14

1.1.4.1. Imunitatea umorală 14
1.1.4.2. Reacţii de hipersensibilitate 15
1.1.4.3. Imunitatea celulară 16
1.1.4.4. Bazele celulare ale imunităţii 16
1.1.4.5. Imunitatea antitumorală 16
1.1.4.6. Imunitatea de heterotransplantare 17
1.1.4.7. Fenomenele de autoimunitate 17

1.1.5. Concluzii 17

1.2. Apărarea nespecifică 19

1.2.1 Apărarea nespecifică la poarta de intrare 19

1.2.1.1. Barierele mecanice 20
1.2.1.2. Barierele chimice 20

1.2.2. Factori de apărare nespecifică sistemică 21

1.2.2.1. Factori sistemici umorali de apărare nespecifică sistemică . . 21

Polipeptidele bazice 21 ◇ Splenocitina 21 ◇ Betalizinele 21 ◇ Stresul infecţios 21 ◇ Interferonul 21 ◇ Hormonii estrogeni 22 ◇ Sistemul complementului 22

1.2.2.2. Factorii celulari de apărare nespecifică sistemică 24

Inflamaţia 24 ◇ Fagocitoza 25

Scanned with OKEN Scanner

1.3. **Apărarea specifică (imună)** 27

1.3.1. Generalităţi asupra răspunsului imun 27

1.3.1.1. Tipuri de răspuns imun 28

1.3.1.2. Dinamica răspunsului imun 28

Răspunsul primar 28 ◇ Răspunsul secundar 29

1.3.1.3. Proprietăţi fundamentale ale răspunsului imun 29

1.3.2. Stimularea răspunsului imun 30

1.3.2.1. Antigene. Antigenicitate 30

Condiţii de imunogenitate 31 ◇ Clasificarea antigenelor 33

1.3.2.2. Imunoadjuvanţii 34

Mecanisme de acţiune 34

1.3.3. Răspunsul imun umoral 35

1.3.3.1 Caracteristici fundamentale 35

1.3.3.2 Structura imunoglobulinelor 35

Modelul general al structurii imunoglobulinelor 35 ◇ Clasele de imunoglobuline 37 ◇ Variaţiile structurale ale imunoglobulinelor corelate cu specificitate de anticorpi 40

1.3.3.3. Biosinteza şi catabolismul imunoglobulinelor 42

Biosinteza imunoglobulinelor 42 ◇ Catabolismul imunoglobulinelor 42

1.3.3.4. Dinamica imunoglobulinelor în răspunsul imun umoral 43

Imunitatea umorală sistemică 43 ◇ Imunitatea umorală locală 44

1.3.3.5 Teorii asupra formării anticorpilor 44

1.3.3.6. Testarea imunităţii umorale 45

Principii metodologice ale reacţiilor antigen-anticorp 45 ◇ Tipuri de reacţii antigen-anticorp 46

1.3.4. Răspunsul imun celular 48

1.3.4.1. Aspecte fundamentale 48

Antigene inductoare 48 ◇ Localizarea antigenului 48 ◇ Veriga efectoare 48 ◇ Locul conflictului imun 49

1.3.4.2. Mecanismele imunităţii celulare 49

Limfochine care acţionează pe limfocit 49 ◇ Limfochine care acţionează pe macrofag 49 ◇ Factorii chimiotactici 51 ◇ Factorii dermoreactivi 51

1.3.4.3. Testarea imunităţii celulare 51

Teste *in vivo* pentru aprecierea imunităţii celulare 51 ◇ Teste *in vitro* pentru aprecierea imunităţii celulare 52

1.3.5. Bazele celulare ale răspunsului imun umoral şi celular 54

1.3.5.1 .Tipuri celulare implicate în răspunsul imun 54

Sistemele timo- şi bursodependent. Limfocitele T şi B 54 ◇ Modificările limfocitelor T şi B în cursul răspunsului imun 57 ◇ Populaţii şi subpopulaţii de celule care intervin în răspunsul imun 59

Scanned with OKEN Scanner

1.3.5.2. Interacţiuni celulare în răspunsul imun 62
Interacţiuni între macrofag şi limfocit 62 ◇ Interacţiuni între macrofag şi granulocit 64 ◇ Interacţiuni între diferitele populaţii şi subpopulaţii limfocitare 65 ◇ Rolul celulelor K şi NC (NK) 65 ◇ Rolul limfocitelor „nule" 66

1.3.6. Imunotoleranţa 67

1.3.6.1 Aspecte ale imunotoleranţei 67
Imunotoleranţa fiziologică (autotoleranţa) 67 ◇ Infecţia naturală murină cu virusul coriomeningitei limfocitare 67 ◇ Imunotoleranţa experimentală (indusă) 67 ◇ „Paralizia" imună 68

1.3.6.2. Mecanismele imunotoleranţei 68
Imunotoleranţa fiziologică (autotoleranţa) 68 ◇
Infecţia naturală marină cu virusul coriomeningitei limfocitare 68 ◇ Imunotoleranţa experimentală (indusă) 68 ◇ „Paralizia" imună 69

1.3.7. Imunosupresia. Agenţii imunosupresivi 69
1.3.8 Stările de imunodeficienţă 69

1.3.8.1. Clasificare 70
Imunodeficienţe primare 70 ◇ Imunodeficienţe secundare 71

1.3.8.2 Tratamentul imunodeficienţelor 71

1.3.9. Autoimunitatea 72
1.3.9.1. Clasificarea bolilor autoimune 72
Bolile autoimune cu specificitate de organ 72 ◇ Bolile autoimune cu predominanţă în anumite zone ale organismului 72 ◇ Bolile autoimune fără specificitate de organ (difuze) 72

1.3.9.2. Mecanismele autoimunităţii 72
Modificarea antigenului self spre non-self 72 ◇ Modificarea situsului limfocitar de recunoaştere 73 ◇ Tulburarea echilibrului limfocitelor T imunomodulatoare 73

1.3.9.3. Testarea proceselor autoimune 73
Teste de autoimunitate pe linie umorală 73 ◇ Testarea autoimunităţii pe linie celulară 73

1.3.9.4. Importanţa practică a autoimunităţii. 74

1.3.10. Stările de hipersensibilitate 74

1.3.10.1. Hipersensibilitatea imediată tip I (atopică sau anafilactică). 75

1.3.10.2. Hipersensibilitatea imediată tip II (citotoxică, dependentă de complement) 77

1.3.10.3. Hipersensibilitatea imediată tip III (prin complexe imune circulante) 79

1.3.10.4. Hipersensibilitatea întîrziată (tip IV) 81

Scanned with OKEN Scanner

1.3.11. Manipularea răspunsului imun 83

1.3.11.1. Imunomanipularea prin agenţi imunosupresivi în boli autoimune sau stări de hipersensibilitate imediate 84

Principii generale privind aplicarea terapiei imunosupresive 84 ◇ Imunomodulatori imunosupresivi cu aplicare uzuală în clinică 85

1.3.11.2. Imunomanipularea prin factori adjuvanţi în boala canceroasă sau alte stări de imunodeficienţă secundară 89

Imunoadjuvanţii bacterieni 90 ◇ Extractele timice 94 ◇ Imunoadjuvanţii chimici (sintetici) 95 Interferonul 96

2. **IMUNOPATOLOGIA LEGATĂ DE SFERA CHIRURGICALĂ** 99

2.1. **Imunoreactivitatea şi actul chirurgical** 99

2.1.1. Reacţii de hipersensibilitate imediată faţă de medicamente . . . 99

2.1.1.1. Aspecte clinice 99

Şocul anafilactic 101 ◇ Sindromul bolii serului 102 ◇ Manifestări cutanate 103 ◇ Manifestări hematologice 103 ◇ Vasculita şi leziunile ţesutului conjunctiv 104 ◇ Leziuni hepatice 105 ◇ Febra 106 ◇ Nefropatia 106 ◇ Limfadenopatia 107 ◇ Manifestări respiratorii 107 ◇ Cardiopatia 108

2.1.1.2. Mecanisme de producere 108

Factori legaţi de antigenicitatea medicamentului 108 ◇ Factori legaţi de organismul sensibilizat 112

2.1.1.3. Diagnosticul stărilor de hipersensibilitate la medicamente 116

Anamneza 116 ◇ Testele cutanate 116 ◇ Testele serologice 117 ◇ Eliberarea de produşi histaminici (amine vasoactive) 117 ◇ Reacţii limfocitare pentru decelarea hipersensibilităţii întîrziate 117 ◇ Teste de provocare 118

2.1.1.4. Tratamentul stărilor de hipersensibilitate la medicamente 118

2.1.2. Stări imunosupresive legate de actul chirurgical şi medicaţia aferentă 119

2.1.2.1. Imunosupresia indusă de reacţia postoperatorie 119

Modificări ale mecanismelor nespecifice şi specifice de apărare imună 121 ◇ Efectele reacţiei endocrinovegetative asupra răspunsului imun 122 ◇ Efectele anesteziei asupra reacţiei imune 124 ◇ Imunosupresia postoperatorie şi implicaţiile sale asupra frecvenţei infecţiilor postoperatorii 128 ◇ Denutriţia — circumstanţă favorizantă în diminuarea capacităţii imunitare 131

2.1.2.2. Imunosupresia antibiotic-indusă 134

Inhibiţia nespecifică a transformării blastice limfocitare 135 ◇ Deprimarea sintezei acizilor nucleici limfocitari 135 ◇ Negativarea testelor de imunitate umorală sau celulară. 136

2.1.2.3. Imunosupresia legată de administrarea postoperatorie a citostaticelor sau de radiumterapie 139

2.1.2.4. Imunosupresia provocată de infecţiile postoperatorii. . . 140

Scanned with OKEN Scanner

2.2. Transfuzia de sînge şi reacţiile posttransfuzionale 141

2.2.1. Sisteme de antigene eritrocitare 141

2.2.1.1. Sistemul ABO 141

Caracteristici 141 ◇ Anticorpi şi aglutinine 142 ◇ Antigene ABO comune 143 ◇ Gruparea indivizilor umani în cadrul sistemului ABO 145 ◇ Discrepanţe în determinarea grupelor sanguine din sistemul ABO 145

2.2.1.2. Sistemul Rh 147

Sistemul Rh de bază 147 ◇ Antigene Rh 148 ◇ Gruparea indivizilor umani în sistemul Rh 150

2.2.1.3. Alte sisteme de antigene eritrocitare 150

2.2.2. Principii metodologice pentru determinarea antigenelor eritrocitare 151

2.2.3. Reacţii posttransfuzionale de incompatibilitate de grup sanguin . 152

2.3. Complexul major de histocompatibilitate. Imunologia şi imunopatologia transplantelor 160

2.3.1. Complexul major de histocompatibilitate (CMH) 160

2.3.1.1. CMH la şoarece; sistemul H—2 160

2.3.1.2. CMH la om; structura şi funcţiile sistemului HL—A 161

Aspecte genetice fundamentale 161 ◇ Genetica sistemului HL-A 162 ◇ Funcţiile sistemului HL-A 164 ◇ Determinarea (testarea) tipului HL-A la om 165

2.3.1.3. Imunologia şi imunopatologia complexului major de histocompatibilitate la om 166

Transplantele şi fenomenul de respingere a grefei 166 ◇ Sistemul HL-A şi boala canceroasă 170 ◇ Corelaţia între sistemul HL-A şi infecţii 171 ◇ Sistemul HL-A şi bolile atopice 171 ◇ Sistemul HL-A şi bolile autoimune 172 ◇ Sistemul HL-A şi deficitul de complement seric 172 ◇ Sistemul HL-A şi grupele sanguine 172

2.4. Imunologia şi imunopatologia bolii canceroase 173

2.4.1. Antigene tumorale 173

2.4.1.1. Antigene induse *de novo* de către agentul oncogen . . . 173

2.4.1.2. Antigene ancestrale reexprimate odată cu cancerizarea 174

2.4.2. Imunitatea anticanceroasă 175

2.4.2.1. Imunitatea umorală 175

2.4.2.2. Imunitatea celulară 175

2.4.2.3. Activitatea celulelor K 177

2.4.2.4. Activitatea celulelor NK şi NC 177

2.4.3. Relaţia cancer-imunodeficienţă 179

2.4.3.1. Cancerul induce imunodeficienţe secundare 179

2.4.3.2. Cancerul apare mai frecvent la indivizi cu imunodeficienţă primară sau secundară 180

2.4.3.3. Rolul imunodeficient al anticorpilor antitumorali facilitanţi 180

2.4.3.4. Alfafetoproteina 180

Scanned with OKEN Scanner

2.4.4. Imunoterapia cancerului 181
2.4.4.1. Antigenul carcinoembrionar cuplat cu virus gripal. . . . 181
2.4.4.2. Administrarea de imunoadjuvanţi 182
2.4.4.3. Administrarea de interferon 182
2.4.5. Concluzii 182

3. ADDENDUM TEHNIC METODOLOGIE ŞI INTERPRETARE 184
3.1. Tehnici de separare a celulelor implicate în răspunsul imun 184
3.1.1. Separarea amestecului de limfocite T + B prin tehnica centrifugării în gradient de densitate 184
3.1.2. Separarea populaţiilor şi subpopulaţiilor limfocitare 186
3.1.2.1. Tehnica de filtrare pe vată de nailon pentru separarea limfocitelor T şi B 186
3.1.2.2. Separarea şi obţinerea limfocitelor T totale prin tehnica rozetării T de mică afinitate 186
3.1.2.3. Separarea şi obţinerea subpopulaţiei de limfocite T ajutătoare prin tehnica de rozetare E de mare afinitate. 187
3.1.2.4. Modificări ale proporţiei de limfocite T totale şi T ajutătoare în diferite afecţiuni umane 187
Scăderea proporţiei de limfocite T totale şi T ajutătoare 187 ◇ Modificarea proporţiei limfocite T ajutătoare/limfocite T supresoare, cu predominanţa limfocitelor T ajutătoare 188 ◇ Scăderea proporţiei de limfocite T totale, fără modificarea raportului limfocite T ajutătoare/limfocite T supresoare 188.

3.2. Teste de imunitate umorală 189
3.2.1. Imunoelectroforeza 189
3.2.2. Imunodifuzia radială simplă 190
3.2.3. Complexe imune circulante 191
3.2.4. Determinarea crioglobulinemiei 192
3.2.5. Testul antiglobulinic Coombs 194
3.2.6. Evidenţierea anticorpilor antinucleari 199
3.2.7. Testul transformării blastice a limfocitelor B *in vitro*. 201

3.3. Teste de imunitate celulară 203
3.3.1. Testul de transformare blastică specifică a limfocitelor T. . . . 203
3.3.2. Testul de inhibiţie a migrării macrofagelor 204
3.3.3. Modificări ale testelor de imunitate celulară (transformare blastică a limfocitelor T; inhibiţia migrării macrofagelor în diferite afecţiuni umane) 205

BIBLIOGRAFIE 207
SUMMARY 221
СОДЕРЖАНИЕ 225

Scanned with OKEN Scanner

PREFAȚĂ

Imunologia reprezintă un domeniu de preocupare de maximă importanță pentru toate specialitățile medicale. De aceea salutăm apariția unei monografii privind problemele de imunologie din domeniul anestezico-chirurgical.

Prezentarea unui material suficient de concis, dar și suficient de amplu pentru a permite înțelegerea mecanismelor de bază ale apărării organismului, mecanisme de a căror integritate și bună funcționare depinde evoluția și supraviețuirea bolnavilor chirurgicali, este absolut necesară pentru practică.

Din cercetările ultimilor ani a rezultat că aceste mecanisme, în complexitatea lor, sînt influențate puternic de o serie de factori rezultînd din actul chirurgical, din terapia aplicată bolnavului, ca și din metodele de anestezie utilizate.

Preocuparea pentru acest domeniu de chirurgie și anestezie este mai veche, dar a fost reluată pe un plan mult mai amplu și complex de-abia în trecutul relativ recent, fapt dovedit de înscrierea subiectelor și temelor de imunologie în tematica celor mai multe congrese de specialitate.

Fenomenele de apărare specifică și nespecifică, deși destul de bine elucidate, nu sînt încă pe deplin lămurite în ceea ce privește modul lor de desfășurare în contextul anestezicochirurgical. Acest lucru a determinat abordarea în cercetare pe scară mai largă a problemelor legate de amintitul context. Autorii s-au înscris prin preocupările lor mai de mult în domeniul cercetării imunologice anestezicochirurgicale.

Cunoașterea de către chirurg și anestezist a patologiei imunologice, cît și a bolilor de autoagresiune, este de importanță capitală pentru stăpînirea acestor stări în perioada perioperatorie.

Reacțiile anafilactoide, problema antigenelor incomplete, problema implicării mecanismelor imune în apariția autoagresiunii din stările de șoc, reacțiile transfuzionale și nu mai puțin problema reac-

Scanned with OKEN Scanner

ților imune, în legătură cu transplantul de organ, sînt numai unele din problemele care constituie elementele absolut necesare în bagajul de cunoștințe al anestezistului și chirurgului zilelor noastre.

Monografia prezentată de colegii Dr. Nicolae Radu și Dr. Constantin Voiculescu umple din acest punct de vedere un gol în literatura medicală. Ea prezintă materialul suficient de amplu, la un volum care nu solicită timp prelungit de lectură și studiu și care abordează, clar și concis, atît problemele generale cît și aspectele speciale ale imunologiei anestezicochirurgicale.

Prof. dr. GEORGE LITARCZEK

Scanned with OKEN Scanner

1. NOȚIUNI FUNDAMENTALE DE IMUNOLOGIE

1.1. Istoric. Dezvoltarea gîndirii imunologice

În dezvoltarea imunologiei se pot stabili o serie de etape istorice care marchează atît acumularea unor cunoştinţe în domeniu, cît şi schimbarea treptată a opticii în această problemă corelată evident cu cîştigarea unui bagaj mai mare de date ştiinţifice. Din acest punct de vedere se pot schiţa următoarele perioade în dezvoltarea imunologiei şi, respectiv, a „gîndirii" imunologice.

1.1.1. Perioada empirică

Încă din antichitate s-a remarcat că subiecţii umani care au trecut prin boală manifestă clinic fără să sucombe în cursul marilor epidemii (ciumă, holeră, variolă), deveneau rezistenţi la un nou val epidemic. În mod implicit, chiar în epoca hipocratică, medicii socoteau deci un om care a trecut printr-un val epidemic drept aprioric rezistent la o virtuală reinfecţie.

În anul 1798, medicul englez Edward Jenner a descoperit şi a aplicat pentru întîia dată vaccinarea antivariolică. El a pornit de la observaţia că în cursul unei epidemii de variolă mulgătorii de vite nu se îmbolnăveau sub forma manifestă clinic. Examinînd îndeaproape acest fenomen, Edward Jenner a remarcat că pe ugerul vitelor existau nişte vezicule cu lichid asemănătoare cu erupţia caracteristică variolei la om, vezicule regăsite, uneori, şi pe mîinile mulgătorilor. De aici medicul englez a raţionat astfel: Nu cumva în interiorul veziculelor de pe ugerul vacilor sau de pe mîinile mulgătorilor se găseşte un principiu care poate proteja omul împotriva variolei?

Scanned with OKEN Scanner

Extrăgînd lichidul vezicular și administrîndu-l pe cale cutanată la om, a obținut protecția împotriva unui nou val epidemic de variolă. Astăzi știm că baza acestei practici de vaccinare (efectuată cu aproape 100 de ani înainte de prepararea științifică a primului vaccin bacterian și cu mai mult de 150 de ani înainte de evidențierea prin microscopie electronică a virusului variolic) se datorește faptului că între virusul variolic al omului și virusul vaccinia bovin (nepatogen pentru om) există o identitate antigenică.

1.1.2. Perioada ipotetică

Marele chimist german, Paul Ehrlich, a lansat ipoteza conform căreia în cursul intervenției unui agent străin organismul reacționează prin eliberarea unor „lanțuri zonale", care s-ar uni cu agentul agresor, inactivîndu-l. Această ipoteză este uimitor de apropiată datelor actuale cu privire la structura și funcțiile imunoglobulinelor (anticorpilor).

1.1.3. Perioada pasteuriană

Unul din momentele-cheie în dezvoltarea imunologiei și gîndirii imunologice a fost prepararea și folosirea primelor vaccinuri de către Louis Pasteur. El a pornit de la premisa că unii germeni patogeni, tratați prin anumite tehnici astfel încît să-și piardă potențialul de a determina boala, își păstrează capacitatea imunogenă, adică aceea de a conferi rezistența. Cele mai importante vaccinuri pasteuriene au fost : vaccinul pestei aviare și vaccinul antirabic. Dealtfel, Pasteur a stabilit pentru prima dată și principiile vaccinoprofilaxiei, care și-au păstrat valabilitatea pînă azi.

1.1.4. Perioada modernă

1.1.4.1. Imunitatea umorală

Pasteur a introdus termenul de „anticorpi", dar substratul material al acestei noțiuni a fost demonstrat mult timp după introducerea noțiunii și anume în deceniul 2 al secolului nostru.

Scanned with OKEN Scanner

În privinţa imunităţii prin anticorpi este interesant de remarcat un paradox şi anume că reacţiile antigen-anticorp uzuale au fost introduse în practica medicală pentru diagnosticul imunologic al unor infecţii (tifos exantematic, febră tifoidă) înainte de cunoaşterea structurii anticorpilor şi, respectiv, a mecanismelor de unire a antigenului cu anticorpul corespondent.

În deceniul al 4-lea a fost făcut un salt calitativ în ceea ce priveşte determinarea structurii anticorpilor, legat de perfecţionarea cercetărilor şi tehnicilor de imunochimie. Astfel, prin descoperirea tehnicii imunoelectroforezei, a cromatografiei componentelor serice, precum şi a tratamentului enzimatic al globulinelor sanguine, a fost posibilă obţinerea datelor fundamentale, valabile pînă astăzi, cu privire la categoriile de proteine plasmatice legate de răspunsul imun umoral, precum şi cu privire la intimitatea proceselor de legare a antigenului cu anticorpul corespondent.

Evident, informaţiile complete cu privire la structura anticorpilor au fost obţinute în ultimile 2—3 decenii, odată cu clarificarea parţială a problematicii referitoare la natura legăturii imune specifice, implicit la structura situsului de combinare din molecula imunoglobulinică.

1.1.4.2. Reacţii de hipersensibilitate

Fenomenele alergice (de hipersensibilitate) sînt cunoscute de mult timp, ca de exemplu, şocul anafilactic, reacţia Arthus, reacţia cutanată de tip tuberculinic, precum şi numeroase manifestări clinice ale alergiilor, fără ca acestea să fie puse în corelaţie cu mecanismele imune de apărare. Abia informaţiile ultimelor 3—4 decenii au permis deplasarea punctului de vedere imunologic către ideea că aceste reacţii de hipersensibilitate reprezintă o formă particulară de apărare specifică, exagerată, care în unele cazuri poate fi chiar dăunătoare. Această nouă optică reprezintă un moment semnificativ în dezvoltarea imunologiei, demonstrînd că răspunsul de tip imun nu trebuie privit în mod finalist, ca o modalitate aprioric benefică pentru organism, indiferent de circumstanţe, ci în mod dialectic, ca unul din mecanismele de adaptare, cu avantajele şi limitele sale.

Scanned with OKEN Scanner

1.1.4.3. Imunitatea celulară

În evoluția imunologiei, fundamentale și aplicate, descoperirea unei a doua forme principale de răspuns imun, prin intermediul limfocitelor T, a însemnat o deschidere nu numai către cercetări experimentale de bază, ci și spre clarificarea unor mecanisme patogenice, explicînd momente din evoluția unor boli, în special infecții cronice (tuberculoză), cancer, precum și verigile fundamentale ale procesului de respingere a grefelor. Fenomenele „clasice", ca reactivitatea din tuberculoză, sifilis, bruceloză etc., au putut fi puse în adevărata lor lumină.

1.1.4.4. Bazele celulare ale imunității

În privința celulelor implicate în dezvoltarea răspunsului imun celular sau umoral există astăzi o adevărată explozie informațională, unele tipuri de celule fiind incriminate *de novo*, altele detronate, altele reîntronate în diferitele puncte nodale ale procesului imun. Este suficient, în acest context, să subliniem că mult timp citomorfologii au refuzat să considere limfocitul ca piatra unghiulară a imunității, dat fiind că, microscopic, această celulă părea o formă „finală" (nucleu compact, tahicromatic). În ceea ce privește bazele celulare ale imunității, astăzi este de neconceput un laborator de imunologie fără însușirea și aplicarea tehnicilor de separare a populațiilor de celule implicate în imunitate. Acest capitol rămîne deschis și reprezintă unul din cele mai pasionate teritorii în cercetarea imunologică modernă.

1.1.4.5. Imunitatea antitumorală

Astăzi se cunosc, desigur, multe date privitoare la mecanismele reactivității imune în cancer. În afară de informațiile mai vechi referitoare la rolul facilitant sau limitant al anticorpilor antitumorali, astăzi se acordă o importanță deosebită sistemului de limfocite T și, respectiv, barierelor de celule naturale (NK și NC) în oprirea temporară a procesului malign. Cunoscîndu-se aceste mecanisme, au fost obținute rezultate pline de speranțe cu privire la folosirea imunoadjuvanților bacterieni (BCG, Corynebacterium parvum) în imunoterapia bolii canceroase.

Scanned with OKEN Scanner

1.1.4.6. Imunitatea de heterotransplantare

Pe baza cunoştinţelor moderne în legătură cu structura sistemului major de histocompatibilitate (HL—A), precum şi pe baza datelor privitoare la mecanismul intim al imunităţii celulare, astăzi se cunoaşte în detaliu procesul de respingere a grefelor (transplantelor), şi, implicit, practicianului chirurg sau imunolog experimentalist li se oferă arme eficace pentru împiedicarea sau amînarea instalării fenomenului de respingere a transplantului.

1.1.4.7. Fenomenele de autoimunitate

Încă o dovadă în favoarea aprecierii dialectice a fenomenelor imune o reprezintă existenţa bolilor autoimune în care sistemul de apărare specifică a organismului reacţionează, prin diferite mecanisme, împotriva propriilor constituenţi. Astăzi asistăm la un capitol mare de patologie, cuprinzînd atît boli în care autoimunitatea reprezintă mecanismul predominant (hepatita cronică activă, tiroidita acută, trombocitopeniile autoimune etc.), cît şi boli în a căror patogenie intervine procesul autoimun ca o verigă momentană (lupusul eritematos diseminat, poliartrita cronică evolutivă etc.).

1.1.5. Concluzii

Din parcurgerea succintă a etapelor de evoluţie a imunologiei şi a gîndirii imunologice rezultă cîteva consideraţii de ansamblu:

— Imunitatea este o modalitate generală de apărare, mai mult sau mai puţin exprimată, dar totdeauna prezentă faţă de un agent care agresionează organismul.

— Imunitatea nu este întotdeauna salutară pentru organism, ci are limitele ei, putînd uneori să reprezinte prin ea însăşi un fenomen patologic (fenomene de hipersensibilitate imediată, unele fenomene autoimune).

— Cuceririle moderne ale imunologiei experimentale şi clinice au permis trecerea bagajului de cunoştinţe imunologice din domeniul laboratorului în cel al practicii medicale imediate. Ne referim la imunoprofilaxia activă prin vaccinuri, fie inactivate, fie vii atenuate, şi la imunoterapia unor boli cronice, cum ar fi boala canceroasă.

Scanned with OKEN Scanner

— În sfîrșit, din cele relatate rezultă necesitatea introducerii studiului sistematic al imunologiei în formarea studenților în medicină precum și în informarea fiecărui medic, indiferent de specialitatea aleasă.

În acest context, se cuvine să subliniem și rațiunea pentru care am abordat tematica acestei lucrări. Socotim că în practica chirurgicală, atît pentru chirurgul care efectuează o intervenție și urmărește evoluția postoperatorie a bolnavului, cît și pentru anestezistul terapeut intensiv, cunoașterea unui minim de date imunologice care să poată fi folosite în stabilirea unei conduite imediate sau de perspectivă la patul bolnavului, este absolut necesară.

Scanned with OKEN Scanner

1.2. Apărarea nespecifică

Apărarea nespecifică reprezintă o modalitate de reacţie faţă de un agent străin, dependentă de structura constituţională (determinată genetic), şi de starea biostaziei la un moment dat, care, însă, nu se corelează ca eficienţă şi promptitudine a răspunsului de apărare, nici cu natura agentului străin şi nici cu numărul de contacte anterioare ale organismului cu acelaşi agent (fig. 1.).

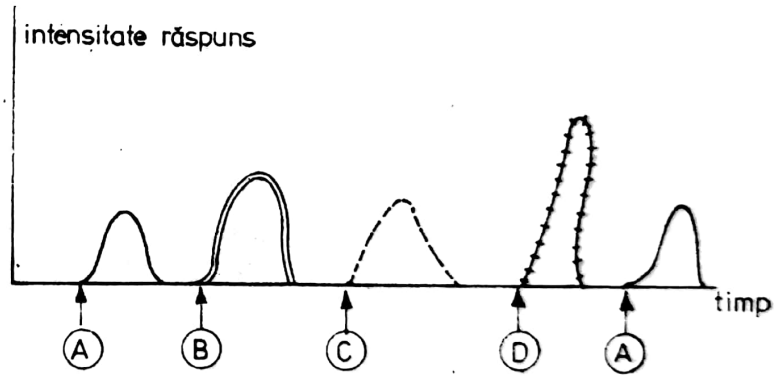


Fig. 1. — Reprezentarea schematică a apărării nespecifice. *A – D*, Diferite antigene nonself.

1.2.1. Apărarea nespecifică la poarta de intrare

Pielea şi mucoasele reprezintă importante bariere de apărare nespecifică sau specifică împotriva diverşilor agenţi străini de la acest nivel. După modul în care operează aceste „filtre" cutanate şi mucoase nespecifice, ele pot fi împărţite în : bariere mecanice şi respectiv chimice.

Scanned with OKEN Scanner

1.2.1.1. Barierele mecanice

Dintre mijloacele eficace nespecifice de oprire a agenților la poarta de intrare menționăm: integritatea epiteliului, pielii sau mucoaselor; mucusul (care, datorită vîscozității sale, reține o serie de particule mari, dar și unii germeni patogeni); în sfîrșit, mișcarea în contracurent a cililor vibratili, în cazul epiteliului căilor respiratorii superioare.

1.2.1.2. Barierele chimice

În această categorie se cuvine să menționăm cîțiva factori nespecifici cu intervenție majoră, mai ales împotriva germenilor infecțioși (bacterii, virusuri și unii paraziți), după cum urmează:

— pH-ul scăzut al pielii asigură o concentrație de ioni de hidrogen mare la suprafața cutanată, mediu incomod pentru supraviețuirea majorității speciilor de bacterii patogene sau condiționat-patogene.

— Acizii grași cu moleculă lungă, prezenți în secreția sebacee îndeosebi, contribuie prin efectele lor bactericide directe, cît și prin accentuarea pH-ului scăzut de la nivelul tegumentului, la realizarea barierei chimice cutanate.

— Lizozimul este o enzimă prezentă în mod fiziologic în unele secreții externe (îndeosebi în salivă și secreția lacrimală), care exercită o acțiune bactericidă netă asupra unor specii de bacterii și, după unele opinii, chiar asupra unor agenți virali cu pătrundere pe cale orală sau conjunctivală.

— Acidul clorhidric din sucul gastric, asigurînd un pH cu valori reduse (aproximativ 2,2), reprezintă una din cele mai eficiente și drastice arme de apărare nespecifică împotriva germenilor pătrunși odată cu alimentele. În mare măsură, datorită acestui factor, se explică de ce alimente relativ bogate în floră bacteriană și chiar virală, odată prelucrate în interiorul stomacului, ajung în în duoden, sterile. În existența acidului clorhidric cu acțiune puternic bactericidă, rezidă explicația de ce toxiinfecțiile alimentare apar numai în cazul ingerării unor cantități masive de germeni prin alimente, care depășesc capacitatea de stăvilire a lor prin acest factor chimic de apărare.

— Secreția biliară, ca și celelalte secreții externe din intestinul subțire (secreția pancreatică, secreția intestinală intrinsecă)

Scanned with OKEN Scanner

reprezintă, de asemenea, în condiţii fiziologice factori bactericizi foarte puternici, ceea ce asigură sterilitatea conţinutului duodenului şi a primei jumătăţi a jejun-ileonului.

1.2.2. Factori de apărare nespecifică sistemică

Organismul posedă o serie de mijloace nespecifice de apărare, dincolo de poarta de intrare. Aceste mijloace pot fi sistematizate în două mari categorii : *factori umorali şi factori celulari.*

1.2.2.1. Factori umorali de apărare nespecifică sistemică

Polipeptidele bazice care se găsesc atît în plasmă, cît şi în mediul extracelular din ţesuturi şi care acţionează bactericid sau bacteriostatic asupra unor germeni bacterieni, în special din grupul cocilor patogeni.

Splenocitina, factor extras din splina animalelor infectate experimental cu germeni bacterieni, exercită o acţiune puternică antibacteriană, în special în cazul infecţiilor cu klebsielle sau pneumococi.

Betalizinele sînt factori prezenţi în plasma normală a omului şi animalului care atacă direct germenii bacterieni pătrunşi dincolo de poarta de intrare, în perioadele de bacteriemie.

Stresul infecţios. Punerea „sub tensiune" a axului hipotalamus—hipofiză anterioară — corticosuprarenală în cursul intervenţiei diverşilor agenţi străini asupra organismului are un efect iniţial de mobilizare a resurselor de apărare multiple, pornind de la activarea catabolismului proteic, pînă la efectele directe antitoxice şi antiinflamatorii ale hormonilor glucocorticoizi. Dacă însă stresul este puternic şi prelungit, el se transformă într-un factor de diminuare a capacităţii de apărare a organismului. Este şi cazul stresului anestezicochirurgical (pentru detalii, vezi punctul 2.1.2.1).

Interferonul reprezintă o substanţă proteică, cu punct izoelectric foarte coborît, care se sintetizează în unele celule ale organismului, în urma agresiunii virale. Interferonul, odată eliberat, protejează celulele din focarul infecţiei virale împotriva multiplicării virusului omolog sau altui virus, dar are şi numeroase acţiuni la distanţă, legate în special de sistemul reticulohistiocitar şi de potenţarea activităţii limfocitelor T „ajutătoare", pentru recunoaşterea

Scanned with OKEN Scanner

antigenului (vezi punctul 1.3.5.2.3). Dealtfel, astăzi se vorbește despre o a doua categorie de interferon, denumit convențional „de tip II", care este secretat nu numai sub acțiunea agenților virali, ci și în urma intervenției altor factori stimulativi, și al cărui sediu sînt limfocitele T antigen-reactive.

Hormonii estrogeni asigură o stăvilire temporară a multiplicării florei bacteriene, în special în teritoriile genitale la femeie.

Sistemul complementului (*alexinei*) cuprinde un complex de proteine serice, termolabile ale cărui componente se activează în lanț. Complementul intervine în etapele finale de realizare a unor procese imune (de exemplu, liza bacteriană sub acțiunea anticorpilor fixatori de complement sau stările de hipersensibilitate imediată de tip II sau III. (Vezi punctul 1.3.10.2a și b). În contextul de față, ne interesează însă intervenția prioritară a sistemului complementului în apărarea nespecifică față de diverși agenți străini. Din figura 2 reiese mecanismul căii comune și respectiv alternative de activare a complementului.

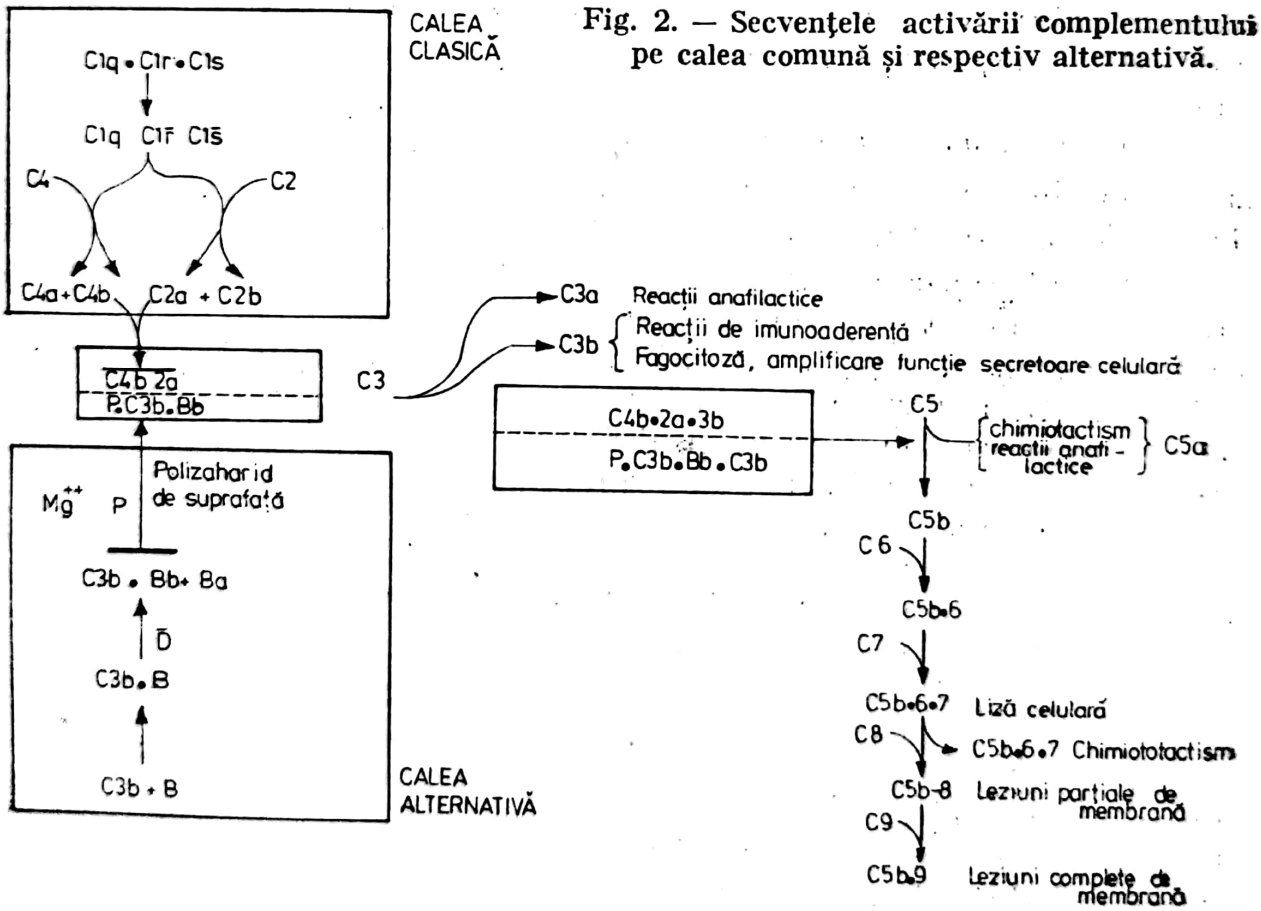


Fig. 2. — Secvențele activării complementului pe calea comună și respectiv alternativă.

Scanned with OKEN Scanner

În esenţă căile comună şi alternativă de activare a complementului comportă următoarele aspecte: factorii declanşatori şi secvenţele procesului.

a) Pentru **calea comună:**

Factori declanşatori sînt: complexe imune circulante (în stările de hipersensibilitate imediată tip III); agregate imunoglobulinice (IgG_1, IgG_2, IgG_3, IgM); eritrocite sau alte celule acoperite de anticorpi citolitici (în stările de hipersensibilitate imediată tip II); proteina C-reactivă cuplată cu polizaharizi pneumococici tip C sau cu complexe polianion-policationice (de exemplu: complexul heparină-protamină).

Secvenţele sînt următoarele:

În fazele iniţiale ale căii comune de activare, intervin trei fracţiuni ale complementului: C_1 (cu subfracţiunile C_{1q}, C_{1r}, C_{1s}), C_4 şi C_2.

— Factorii declanşatori activează C_{1q}, care se fixează pe domeniul CH_2 din moleculele Ig agregate sau din complexele imune circulante;

— C_{1q} activat, în prezenţa ionilor de calciu, activează C_{1r}, iar C_{1r} activat activează consecutiv C_{1s};

— C_{1s} activat determină clivarea fracţiunii C_4 în două subfracţiuni: C_{4a} şi C_{4b};

— C_{4b} activat se fixează, pe de o parte, pe imunoglobulinele agregate, iar pe de altă parte pe imunoglobulinele deja ataşate pe suprafaţa eritrocitelor sau altor celule, acest moment declanşînd activarea fracţiunii C_2;

— C_2 activat, prin clivare, dă naştere subfracţiunii C_{2a}, care se cuplează cu subfracţiunea C_{4b}, produsul rezultat fiind o enzimă numită *C_3-convertază* (C_{4b2a});

— C_3-convertaza (C_{4b2a}) acţionează ca enzimă de clivare asupra fracţiunii C_3, rezultînd subfracţiunile C_{3a} şi C_{3b};

— subfracţiunea C_{3b} activează apoi lanţul fracţiunilor C_5—C_9 (menţionăm că fracţiunea C_5 este şi ea clivată în subfracţiunea C_{5a} şi C_{5b});

— rezultatul final este *liza celulară*.

Diferitele fracţiuni sau subfracţiuni din calea comună de activare sînt corelate cu anumite fenomene ca, de exemplu: C_{3a}: reacţiile anafilactice (hipersensibilitate imediată tip I); C_{3b}: imu-

Scanned with OKEN Scanner

noaderență, fagocitoză, amplificarea funcției celulare secretorii; C_{5a} : chimiotactism ; reacții anafilactice ; C_{5b}, C_6, C_7 ; chimiotactism ; C_{5b}, C_8 : leziune parțială a membranelor celulare acoperite cu anticorpi citolitici.

b) Pentru **calea alternativă** :

Factori declanșatori sînt : agregate IgA ; polizaharizi de origine bacteriană sau fungică (zimozan, insulină) ; endotoxine bacteriene.

Secvențele sînt următoarele :

Factorii declanșatori acționează direct asupra fracțiunii C_3, proces în care intervin și două proteine plasmatice, denumite B și $\overline{D}$, după cum urmează :

— Factorii declanșatori, în prezența ionilor de magneziu, clivează o parte din fracțiunea C_3 în subfracțiunile C_{3a} și C_{3b} ;

— Subfracțiunea C_{3b}, în prezența proteinei $\overline{D}$ (properdinei), determină clivarea proteinei B în subfracțiunile Ba și Bb ;

— Se produce cuplarea subfracțiunilor C_{3b} și Bb din care rezultă un alt tip de *C_3-convertază*, diferit de cel din calea comună de activare, denumit simbolic $C_{3b}Bb$;

— C_3-convertaza ($C_{3b}Bb$) activează fracțiunea C_3, cu apariție de noi eșantioane de C_{3a} și C_{3b} ;

— C_{3b} determină activarea în lanț a fracțiunilor C_5—C_9, după modelul descris la calea comună de activare.

Subliniem că apariția continuă de cantități de C_3-convertază ($C_{3b}Bb$) în cursul căii alternative, denumită și „amplificare", reprezintă o modalitate de adaptare prin „feed-back" pozitiv, intensificînd lanțul proceselor de activare, atît în etapele secundare ale căii comune, cît și ale căii alternative.

1.2.2.2. Factorii celulari de apărare nespecifică sistemică

Cei mai importanți factori de apărare celulară nespecifică sînt inflamația și fagocitoza.

1.2.2.2.1. Inflamația

Reprezintă un proces local, tisular care se realizează cu o intensitate mai mare în cazul unor procese bacteriene și cu o intensitate mai mică în cazul unor procese de altă natură.

Scanned with OKEN Scanner

Din punct de vedere clinic inflamaţia se caracterizează prin semnele majore cunoscute : rubor, calor, tumor, dolor, la care se adaugă impotenţa funcţională a segmentului respectiv.

Din punct de vedere al mecanismelor intime, procesul de inflamaţie este complex. Iniţial, sub acţiunea agentului extern provocant, are loc o vasodilataţie capilară, determinată de procese vasomotorii centrale şi periferice, guvernate de sistemul neurovegetativ. Vasodilataţia capilară are două urmări importante : trecerea din spaţiul vascular în spaţiul interstiţial al leucocitelor (procesul de *diapedeză leucocitară*) şi transvazarea unor componente proteice plasmatice în afara spaţiului vascular. Creşterea consecutivă a concentraţiei de proteine în spaţiul intercelular duce la tulburarea echilibrului fiziologic, legat de presiunea coloidosmotică a proteinelor, ceea ce atrage o creştere a volumului lichidului şi a concentraţiei de electroliţi din spaţiul interstiţial, contribuind la formarea şi menţinerea edemului inflamator. Factorii locali care contribuie la manifestarea plenară a inflamaţiei sînt mai ales aminele vasoactive (de tipul histaminei), prostaglandinele şi unii hormoni tisulari, încă insuficient de bine caracterizaţi din punct de vedere chimic şi farmacodinamic.

1.2.2.2.2. Fagocitoza

Fagocitoza reprezintă proprietatea unor celule din organism de a îngloba particule străine sau germeni integri.

Se cunosc două mari categorii de celule cu proprietăţi fagocitare şi anume : celulele *macrofage*, aparţinînd sistemului reticulohistiocitar (exemple : macrofagele splenice, celulele Kupffer din ficat, monocitele din sîngele periferic), care înglobează particule macromoleculare sau fragmente de germeni şi celulele *granulocitare neutrofile* care înglobează edificii mari (germeni bacterieni integri).

Cea mai bine cunoscută este fagocitoza bacteriană. Ea se realizează prin două momente importante : prima barieră fagocitară, acţionînd imediat după invazia dincolo de poarta de intrare a germenilor, este realizată de granulocitele neutrofile ; a doua barieră de apărare este realizată ulterior de către macrofage sau alte celule ale sistemului reticulohistiocitar, care „curăţă terenul" după procesul primei etape, înglobînd restul de germeni şi de leucocite.

Fagocitoza bacteriană comportă mai multe etape :

— *Adsorbţia sau ataşarea.* În această etapă germenii se ataşează pe suprafaţa fagocitului. Este foarte important de subliniat

Scanned with OKEN Scanner

că în această etapă poate interveni, în mod facilitant, o categorie de anticorpi numiți *opsonine*, care, înconjurînd germenii, îi fac mai succeptibili de a fi adsorbiți pe suprafața celulei fagocitare. Astfel se explică de ce fagocitoza, proces de apărare celulară sistemică *nespecific*, este influențată de unii factori specifici (imuni).

— *Penetrarea.* Germenii odată atașați pe suprafața fagocitului intră apoi în citoplasma acestuia printr-un proces încă incomplet clarificat, probabil prin *pinocitoză*. Neîndoios rămîne faptul că această pătrundere a germenilor din afara fagocitului în interiorul acestuia se soldează cu un consum energetic masiv la care participă cu un rol important moleculele ciclice de tipul AMPc și GMPc.

— *Distrucția intracelulară.* Germenii ajung în lizozomii celulei fagocitare, organite care, dealtfel, în celulele cu asemenea proprietăți sînt foarte bine dezvoltate și poartă numele de *fagolizozomi*. În interiorul fagolizozomului germenul este de regulă digerat sub acțiunea enzimelor lizozomale, din familia hidrolazelor acide, între care menționăm : acid-fosfataza, beta-glicuronidaza și ribonucleaza. S-a mai stabilit că și în restul citoplasmei fagocitului, deci în afara fagolizozomilor, pot acționa prin distrucția intracelulară a germenilor unele enzime ca de pildă lizozimul sau fagocitina.

Nu trebuie să se înțeleagă că fagocitoza reprezintă un mecanism celular de apărare nespecifică exclusiv antibacterian. Deși datele cu privire la fagocitarea protozoarelor patogene și, mai ales, cu privire la fagocitarea agenților virali sînt mult mai sărace, fenomenul de fagocitoză parazitară și, respectiv virală, este real și, în anumite condiții și momente, poate avea un rol de apărare notabil.

Scanned with OKEN Scanner

1.3. Apărarea specifică (imună)

1.3.1. Generalităţi asupra răspunsului imun

Imunitatea își are etimologia în termenul latin *immunitas* care, în accepţiunea inițială, era o noţiune juridică, semnificînd scutirea de la un serviciu public. Prin translaţie tematică, mai tîrziu, termenul s-a legat de protecţia faţă de o anumită boală.

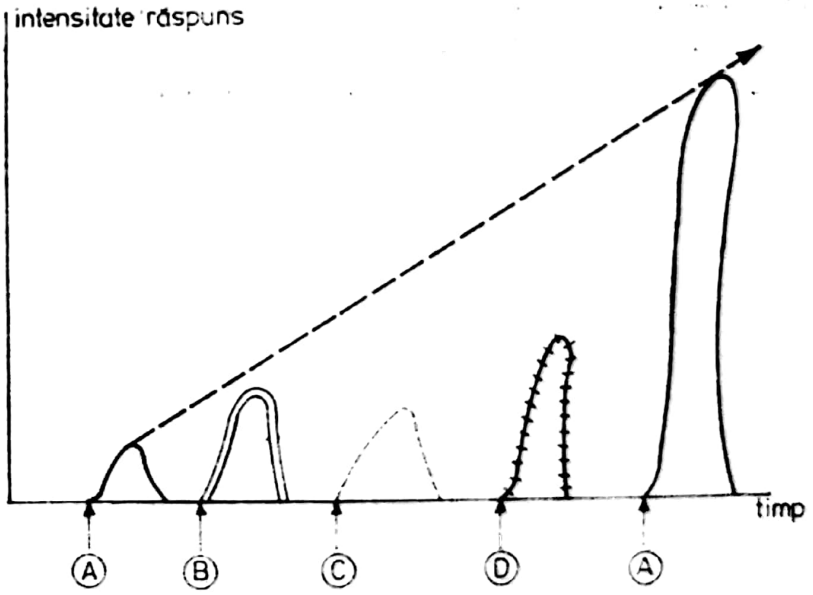


Fig. 3. — Reprezentarea schematică a apărării specifice (imune). *A — D*, Diferite antigene nonself.

Apărarea specifică sau ***imunitatea*** reprezintă o modalitate reactivă diferenţiată în funcţie de agentul inductor și de contactele organismului cu un același agent inductor. Cu alte cuvinte, răspunsul specific sau imun este cu atît mai rapid și mai eficient cu cît subiectul a venit de mai multe ori în contact cu un anumit agent (fig. 3).

Agentul capabil să producă imunitate poartă numele de ***antigen.***

Scanned with OKEN Scanner

1.3.1.1. Tipuri de răspuns imun

Se cunosc două tipuri principale de răspuns imun şi anume :

Răspunsul imun umoral, care recunoaşte ca verigă efectorie nişte proteine specifice, numite *anticorpi* sau *imunoglobuline.*

Răspunsul imun celular, în care veriga efectorie este realizată de către o subpopulaţie de celule numite *limfocite T efectoare* (*imune*).

În subcapitolele care urmează (punctele 1.3.3. şi 1.3.4.), vom detalia caracteristicile fiecărui tip de răspuns imun în parte.

1.3.1.2. Dinamica răspunsului imun

Aşa cum reiese din figurile 4 şi 5, atît în evoluţia răspunsului imun umoral, cît şi a celui celular, etapele de evoluţie a imunităţii pot fi grupate în două categorii : răspunsul primar şi răspunsul secundar.

1.3.1.2.1. Răspunsul primar

Răspunsul primar (fig. 4) se realizează la contactul organismului cu un antigen complet necunoscut. Evoluţia acestui răspuns marchează o serie de faze, după cum urmează :

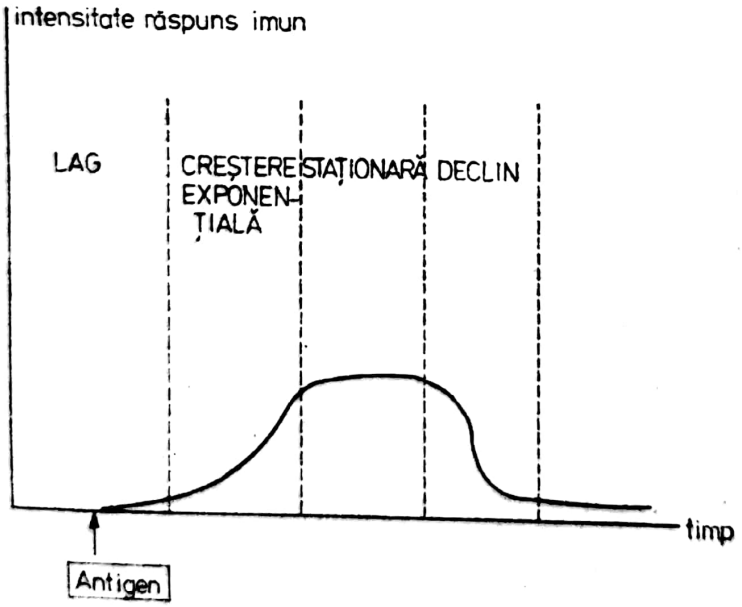


Fig. 4. — Schema răspunsului imun primar (dinamică).

— Faza de *latenţă* (4—7 zile), în care nu se produce nici o modificare aparentă a reactivităţii.

Scanned with OKEN Scanner

— Faza *exponenţială* (2—3 zile), în care are loc o creştere lentă, progresivă a intensităţii reacţiei imune.

— Faza *staţionară* (3—5 zile), în care intensitatea răspunsului este relativ aceeaşi, la un nivel constant, dar nu prea ridicat.

— Faza de *declin* (instalată după 10—14 zile de la stimularea antigenică), în care răspunsul imun scade lent şi progresiv, pînă la un nivel aproape egal cu zero.

1.3.1.2.2. Răspunsul secundar

Răspunsul secundar sau reacţia anamnestică (fig. 5) reprezintă modalitatea de reactivitate specifică a organismului după contactul cu un antigen cunoscut (faţă de care a mai răspuns anterior).

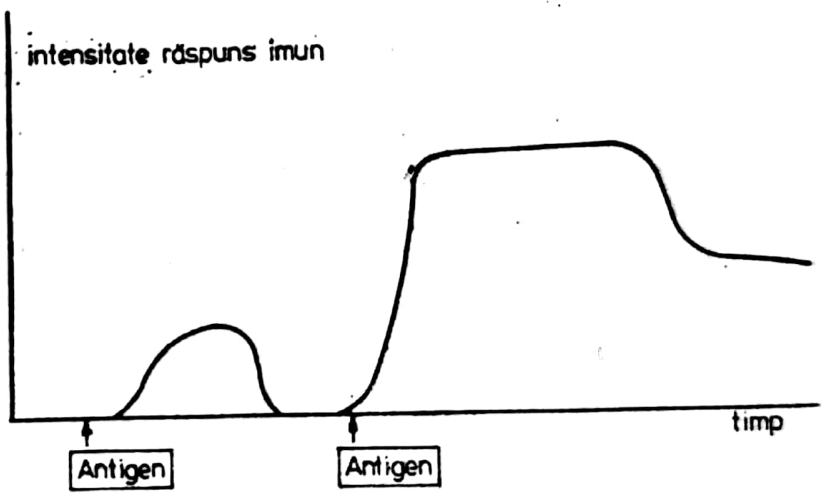


Fig. 5. — Schema răspunsului imun secundar : reacţia anamnestică (dinamică).

Răspunsul secundar se caracterizează prin scurtarea fazei de latenţă, creşterea rapidă a intensităţii răspunsului pînă la un nivel ridicat, menţinerea în platou a acestui nivel timp mai îndelungat şi scăderea lentă a răspunsului, cu menţinerea unui fond imunitar rezidual.

1.3.1.3. Proprietăţi fundamentale ale răspunsului imun

Răspunsul imun umoral sau celular are următoarele proprietăţi fundamentale : recunoaşterea, specificitatea şi memoria imună.

Recunoașterea este capacitatea sistemului imunoformator de a decela diverse antigene și de a se diferenția pentru răspuns specific față de acestea.

Specificitatea este capacitatea sistemului imunoformator de a recunoaște un anume antigen din noianul de antigene cu care vine în contact.

Memoria imună este proprietatea sistemului imunoformator de a recunoaște mai rapid unele antigene cu care a mai venit anterior în contact și de a se diferenția mai eficient în vederea dezvoltării imunoreactivității aferente.

1.3.2. Stimularea răspunsului imun

1.3.2.1. Antigene. Antigenicitate

Antigenicitatea este proprietatea unui antigen de a se uni specific *in vitro* cu anticorpul corespondent.

Imunogenitatea este capacitatea unui antigen de a induce în organism răspuns imun umoral sau celular.

Antigen complet sau *imunogen* este acel antigen care prezintă ambele proprietăți: antigenicitate și imunogenitate.

Antigen incomplet sau *haptenă* este acea parte din molecula antigenică lipsită de imunogenitate, dar capabilă de a se uni „in vitro" cu anticorpul corespondent, deci care prezintă capacitate antigenică.

Cu alte cuvinte, un antigen complet sau imunogen este format dintr-o componentă neimunogenă numită haptenă și o altă compo-

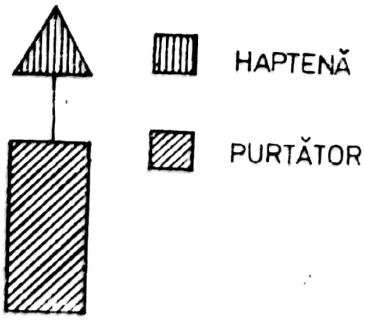


Fig. 6. — Componentele principale ale unui imunogen (antigen complet).

nentă numită „purtător" (fig. 6). Numai în forma cuplată haptenă-purtător un antigen este atît imunogen, cît și antigenic.

Scanned with OKEN Scanner

1.3.2.1.1. Condiţii de imunogenitate

a) *Noţiunea „propriu-străin" (self—non-self).* Sistemul imunoformator este capabil să se diferenţieze pentru răspuns imun numai faţă de factori care nu fac parte din economia proprie a organismului. Aceşti factori au fost denumiţi generic antigene „străine" (*non-self*). Dimpotrivă, factorii intrinseci, care se găsesc în mod obişnuit în organism şi faţă de care sistemul imunoformator nu reacţionează fiziologic prin răspuns imun, poartă numele de antigene „proprii" (*self*). Capacitatea de discriminare între antigenele străine şi cele proprii ale aparatului imunoformator este extrem de fină. În acest sens, este suficient să menţionăm că simpla modificare în structura primară a unei proteine prin înlocuirea unui aminoacid cu altul duce la virajul proteinei respective din starea de „propriu" în cea de „străin". În stările de autoimunitate (vezi mai jos, 1.3.9.) proteinele modificate sînt recunoscute în mod patologic.

b) *Complexitatea structurală a antigenului* comportă o serie de parametri :

Mărimea moleculei. S-a stabilit că cu cît edificiul molecular antigenic este mai mare, cu atît antigenul este mai imunogen. Astfel, proteinele cu greutate moleculară sub 10 000 de daltoni sînt slab imunogene, pe cînd proteinele cu peste 1 000 000 de daltoni greutate moleculară manifestă imunogenitate puternică.

Forma moleculei. Cu cît configuraţia alosterică a haptenei din molecula antigenică este mai complicată, prezentînd mai multe colţuri sau curburi, cu atît antigenul respectiv este mai imunogen.

Natura fizicochimică a grupărilor determinante. Rămîne ilustrativ faptul că de natura aminoacizilor de pe suprafaţa haptenei (grupării determinante) depinde imunogenitatea. Astfel se ştie că mai mulţi aminoacizi ciclici per grupare determinantă induc imunogenitate mai puternică. Pe de altă parte, s-a stabilit că însăşi poziţia radicalilor în nucleul benzenic al unor aminoacizi ciclici, în orto, meta, para influenţează imunogenitatea şi specificitatea de antigen.

Numărul de grupări determinante per moleculă. Dacă pe suprafaţa haptenei densitatea grupărilor determinante este mai mare, şansa ca acel antigen să fie mai imunogen creşte.

Caracterul repetitiv al unor grupări determinante. Dacă din loc în loc, pe suprafaţa haptenei, reapare o grupare determinantă

Scanned with OKEN Scanner

de o anumită natură fizicochimică, molecula antigenică este mai imunogenă.

c) *Modul de administrare a antigenului.* Atît *doza* (cantitatea), cît şi *numărul* imunizărilor influenţează imunogenitatea unui antigen. Un factor care de asemenea nu trebuie neglijat este stabilirea *intervalelor optime* între imunizări. De regulă, cu cît cantităţile de antigen sînt mai mari, numărul de imunizări este de asemenea mare şi se respectă un anume interval între imunizări, răspunsul imun creşte progresiv. Stabilirea unor asemenea parametri pentru obţinerea unui răspuns imun eficient se face pentru fiecare categorie de antigen în parte şi în funcţie de specia receptorului, ceea ce prezintă o importanţă esenţială în determinarea calendarului vaccinărilor.

d) *Rolul purtătorului în imunogenitate.* Mult timp s-a acordat purtătorului din molecula antigenică numai un rol pasiv, fără a-l socoti implicat în specificitate, aşa cum se ştie demult despre haptenă. Experienţe mai recente cu antigene sintetice (în componenţa cărora intră haptenă şi purtător cu constituţie chimică bine determinată), au infirmat această opţiune. În figura 7 prezentăm schematic o asemenea experienţă. Dacă un şoarece este imunizat cu un antigen complet sintetic format din haptena X cuplată cu purtătorul A şi se face transferul limfocitelor imune ale acestui animal la un şoarece iradiat, stimularea ulterioară a şoarecelui iradiat şi reconstituit cu acelaşi antigen complet (X—A), este urmată de dezvoltarea unui răspuns imun de tip secundar, deci cu creştere progresivă şi cu nivel ridicat constant. Dacă însă şoarecele iradiat şi reconstituit cu limfocite imune este stimulat cu un alt antigen complet care conţine haptena X cuplată cu un alt purtător (B), răspunsul imun faţă de haptena X este mult mai lent şi mai redus în intensitate.

e) *Factori genetici.* Există numeroase observaţii care atestă însemnătatea speciei şi alotipului în dezvoltarea unui răspuns imun faţă de anumite antigene. Astfel, antigenele capsulare pneumococice, cunoscute îndeobşte ca imunogene puternice, determină răspuns imun intens la şoarece sau la om, dar un răspuns redus la iepure.

Un alt exemplu în acest sens îl reprezintă experienţele cu insulină administrată ca antigen la cobai de linii genetice diferite. Presupunînd că am luat în studiu liniile N şi M de cobai şi le-am imunizat cu aceeaşi doză şi conform aceleiaşi scheme de imunizare

Scanned with OKEN Scanner

cu insulină, se observă că anticorpii antiinsulinici dezvoltați în linia M sînt mai slabi și mai puțin eficienți decît cei dezvoltați în linia N.

O altă experiență este cea cu antigene sintetice administrate la linii genetice diferite de cobai. Un asemenea antigen sintetic este format dintr-o haptenă de benzil-peniciloid și un purtător constituit

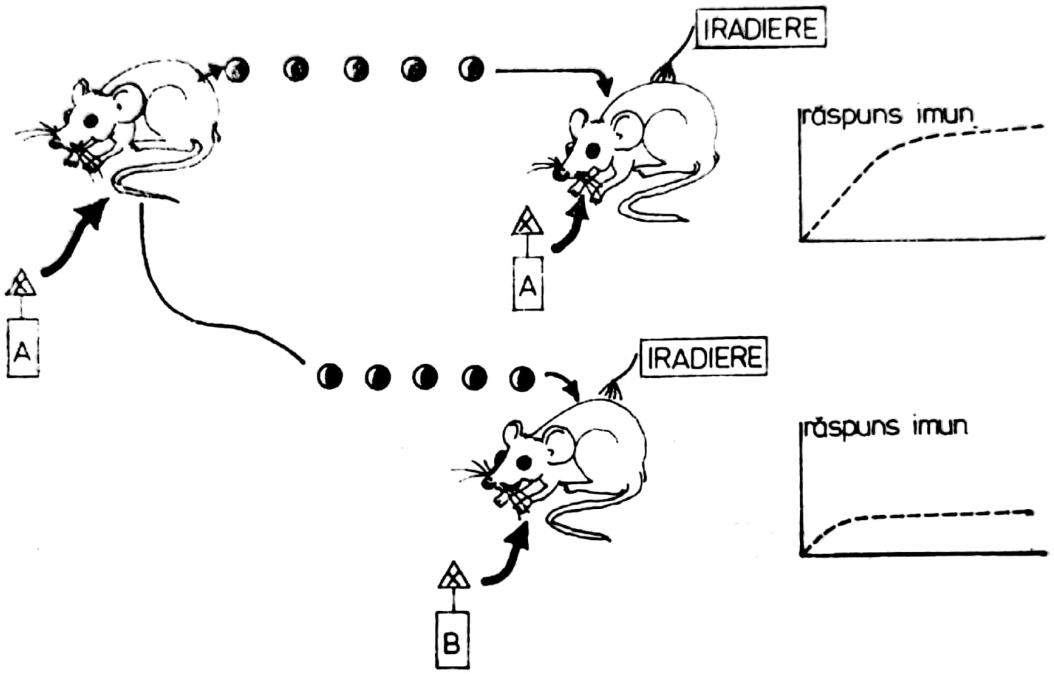


Fig. 7. — Experiență cu antigene sintetice care atestă rolul purtătorului din molecula de antigen în imunogenitate. *X*, haptenă; *A* și *B*, purtători.

dintr-un polimer sintetic de lizină. Dacă un asemenea imunogen sintetic este administrat atît liniei N cît și liniei M de cobai, se remarcă următoarele: În cazul liniei (denumite convențional N), animalul dezvoltă un răspuns imun umoral prin anticorpi anti-benzilpeniciloid, pe cînd în cazul liniei denumită convențional M, acești anticorpi lipsesc.

1.3.2.1.2. Clasificarea antigenelor

Antigenele se pot clasifica după mai multe criterii, dar cel mai des utilizat este cel al naturii acestora. Există astfel antigenele *neinfecțioase* și *infecțioase*.

Scanned with OKEN Scanner

a) *Antigenele neinfecţioase* sînt de două categorii :

Solubile (proteine heteroloage structurale, ca de exemplu mioglobina, albumina bovină serică, ovalbumina, şi proteine heteroloage catalitice, cum sînt enzimele, hormonii).

Corpusculare, care pot fi împărţite, la rîndul lor în : antigene de histocompatibilitate (sistemul H—2 la şoarece şi sistemul HL—A la om, pe care le vom discuta pe larg la punctul 2.3.1.) şi antigene tumorale (vezi punctul 2.4.1.).

b) *Antigenele infecţioase* sînt foarte numeroase. Fără a se intra în amănunte care ar depăşi perimetrul tematic al lucrării de faţă, menţionăm că antigenele infecţioase se pot clasifica în :

— *bacteriene* : corpusculare (ciliare, somatice, capsulare, fimbriale) şi solubile (exotoxine, exoenzime) ;

— *virale* (de înveliş, capsidale, ale acizilor nucleici) ;

— *parazitare*.

1.3.2.2. Imunoadjuvanţii

Reprezintă factorii care stimulează nespecific răspunsul imun umoral sau celular.

Imunoadjuvanţii pot fi clasificaţi în : *minerali* (săruri de aluminiu, beriliu, siliciu), *organici*, de origine vegetală (vitamina A), fungică şi bacteriană (BCG, lipopolizaharidul enterobacterian, (LPS), *Corynebacterium parvum*) şi *sintetici* (levamisolul).

Mecanisme de acţiune. Imunoadjuvanţii acţionează diferit în funcţie de natura lor. Astfel cei minerali acţionează prin menţinerea mai mult timp a antigenului în preajma porţii de intrare, acesta fiind mai uşor prelucrat prin macrofage şi oferit limfocitelor T sau B pentru recunoaştere. Imunoadjuvanţii bacterieni (BCG, LPS, *C. parvum*), precum şi cei medicamentoşi (levamisolul) acţionează în principal prin stimularea recunoaşterii unor antigene, mai ales tumorale, datorită potenţării activităţii limfocitelor T ajutătoare. (Pentru detalii, vezi punctul 1.3.5.2.3.)

Importanţa practică a imunoadjuvanţilor, în special a celor bacterieni, constă în introducerea lor în imunoterapia formelor incipiente ale bolii canceroase. În acest sens, experienţele cu BCG, *C. parvum* şi LPS enterobacterian, îndreptăţesc toate speranţele. (Vezi şi punctul 2.4.4.2.)

Scanned with OKEN Scanner

1.3.3. Răspunsul imun umoral

1.3.3.1. Caracteristici fundamentale

— Răspunsul imun umoral se realizează prioritar față de următoarele antigene: eritrocite heteroloage; bacterii, virusuri, paraziți care determină de regulă infecții sau infestații cu evoluție acută; proteine plasmatice heteroloage.

— Locul de impact între antigen și veriga efectoare imună poate fi situat la distanță, atît de poarta de intrare a antigenului, cît și de locul de sinteză a verigii efectoare.

— Veriga efectoare o reprezintă niște proteine specifice numite *anticorpi* sau *imunoglobuline*, sintetizate în urma stimulării cu un anumit antigen, capabile să se unească cu antigenul inductor.

— Testarea imunității umorale se face prin așa-numitele *reacții antigen-anticorp*.

1.3.3.2. Structura imunoglobulinelor

1.3.3.2.1. Modelul general al structurii imunoglobulinelor

Anticorpii sau imunoglobulinele reprezintă proteine plasmatice heterogene aparținînd grupului globulinelor, cu greutate moleculară și sarcină electrostatică diferită, în funcție de clasă și subclasă.

Orice imunoglobulină, independent de clasa căreia îi aparține, conține un anume „tipar" fundamental, constituit din două categorii de lanțuri polipeptidice: lanțuri *grele* sau *H* (*heavy* = greu), cu greutatea moleculară de 50 000 de daltoni; și lanțuri *ușoare* sau *L* (*light* = ușor), cu greutatea moleculară de 22 000 daltoni.

De-a lungul fiecărui tip de lanț (greu sau ușor), există o porțiune *constantă* și una *variabilă*. Diferențele între cele două porțiuni se referă la secvențele primare de aminoacizi. În porțiunile constante, aceste secvențe diferă numai în funcție de specie, alotip și clasa imunoglobulinică, iar în porțiunile variabile secvențele sînt deosebite, în raport cu specificitatea de anticorp.

Două lanțuri H realizează miezul central al structurii, fiind flancate fiecare în parte de cîte un lanț L. Între lanțurile H alăturate precum și între lanțurile H și L vecine, se realizează legături (punți) disulfidice.

Scanned with OKEN Scanner

Conform celor spuse mai sus, pe lanţul L, respectiv H, va exista o porţiune constantă (CL, respectiv CH) şi o porţiune variabilă (VL, respectiv VH).

Aşa cum reiese din figurile 8 şi 9, porţiunile constante ale lanţurilor H formează la capătul lor o zonă numită *Fc* (= fragment de

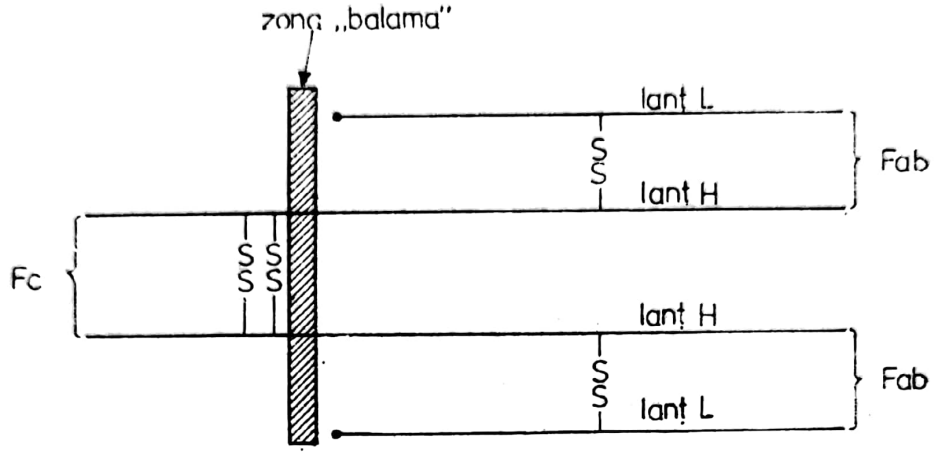


Fig. 8. — Modelul structural fundamental al moleculei de imunoglobulină (*L* = *light* = uşor ; H = *heavy* = greu).

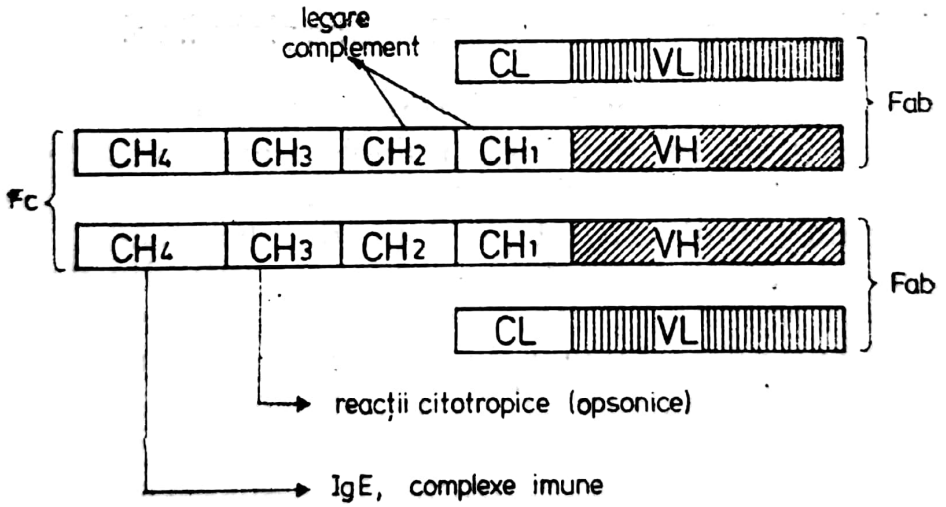


Fig. 9. — Porţiunile variabile şi constante din componenţa lanţurilor imunoglobulinice H şi L.

fixare a complementului). La celălalt pol al structurii, între porţiunile VL şi VH vecine, se realizează o zonă terminală numită zona *Fab*. (*fragment of antigen binding* = fragment de legare a antigenului). Vor fi deci, două zone Fab per structură. La nivelul zonelor Fab se realizează legătura imună specifică.

Scanned with OKEN Scanner

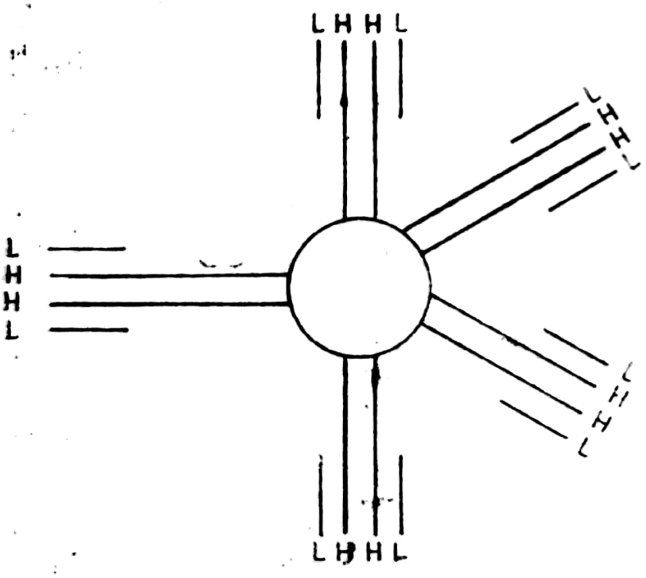
Undeva, în vecinătatea punţilor disulfidice inter-lanţuri H vecine, se găseşte o zonă numită *„regiunea balama"* în jurul căreia se produce îndoirea în spaţiu a structurii.

Mai menţionăm că în cadrul porţiunii constante a lanţurilor H (CH), există subzone denumite convenţional: CH1, CH2, CH3, CH4 cu funcţii diferite.

În sfîrşit, notăm că din punct de vedere al activităţii lor ca *antigene de specie* sau *alotip*, atît lanţurile L, cît şi lanţurile H prezintă anumiţi determinanţi. În cazul lanţurilor L, aceşti determinanţi au fost denumiţi convenţional λ şi k, iar în cazul lanţurilor H: α, μ şi γ.

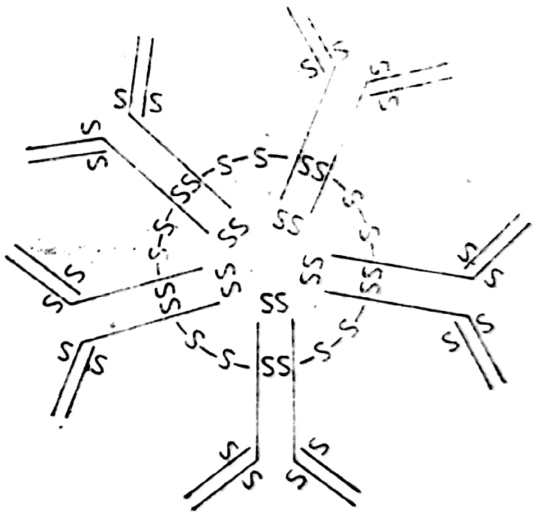
1.3.3.2.2 Clasele de imunoglobuline

Există cinci clase de imunoglobuline dintre care trei principale (I_gG, I_gM, I_gA) şi două secundare (I_gD, I_gE). Acestea au fost caracterizate, după cum urmează:



a

Fig. 10 (*a*). — Structura moleculei imunoglobulinice IgG.



b

Fig. 10 (*b*). Structura schematică a moleculei pentamerice IgM.

a) **Clasa IgG.** După cum reiese din figura 10 (a) clasa IgG are o structură asemănătoare tiparului fundamental care intră în constituţia oricărei imunoglobuline.

Proprietăţi nelegate de activitatea imună: greutate moleculară = 150 000 daltoni; constantă de sedimentare = 7 S; proporţie glucide/ /moleculă = 3 %.

Proprietățile legate de activitatea imună (specifică) sînt :

— Moleculele IgG sînt *bivalente*, adică prezintă două fragmente Fab (situsuri active per moleculă).

— Legătura specifică dintre anticorpii IgG și antigenul corespondent este puternică (afinitate mare).

— Anticorpii IgG au un rol prioritar, major, în imunitatea umorală sistemică.

b) **Clasa IgM.** Figura 10 (b) arată schematic structura unei molecule IgM.

Proprietăți nelegate de activitatea imună. Greutate moleculară = 900 000 daltoni; constante de sedimentare = 19S; conținut procentual glucide/moleculă = 8 %.

Proprietăți legate de activitatea imună (specifică) sînt :

— Molecula IgM este formată dintr-un inel central polipeptidic pe care se atașează 5 structuri imunoglobulinice de tip IgG. Din punct de vedere strict fizic, deci, molecula IgM prezintă 10 situsuri de legare specifică (fragmente Fab). Totuși, s-a stabilit că numai jumătate dintre acestea (5 situsuri) sînt active. Cu alte cuvinte, molecula IgM este pentavalentă.

— Legătura specifică între anticorpul IgM și antigenul corespondent este mai laxă decît în cazul legăturii IgG-antigen (afinitate slabă).

— Moleculele IgM apar precoce în imunitatea umorală sistemică, reprezentînd prima barieră specifică de acest fel.

— Moleculele IgM, în anumite condiții, reprezintă și factori activatori ai complementului.

c) **Clasa IgA** se găsește fie în umori (sub formă de monomeri sau dimeri), fie în secrețiile externe (sub formă de agregate mari, numite IgA secretoare sau IgAs).

În umori, așa cum este arătat în figura 11, moleculele IgA pot fi constituite din *monomeri* de tip IgG sau din *dimeri*, două structuri monomerice legate printr-un lanț numit *lanțul proteic J*.

În secrețiile externe, moleculele IgAs sînt constituite dintr-un monomer IgA, similar ca structură monomerilor plasmatici, cuplate la o proteină cu moleculă lungă, denumită piesă *secretoare* sau *accesorie*.

Scanned with OKEN Scanner

Proprietăţile nelegate de activitatea imună:

Greutate moleculară pentru umori: monomeri = 160 000 daltoni; dimeri = 360 000 daltoni; pentru secreţii externe: monomer + piesă „secretoare" = circa 600 000 daltoni. Constantă de sedimendare pentru umori = 7S sau 9S; pentru secreţii externe = 11S.

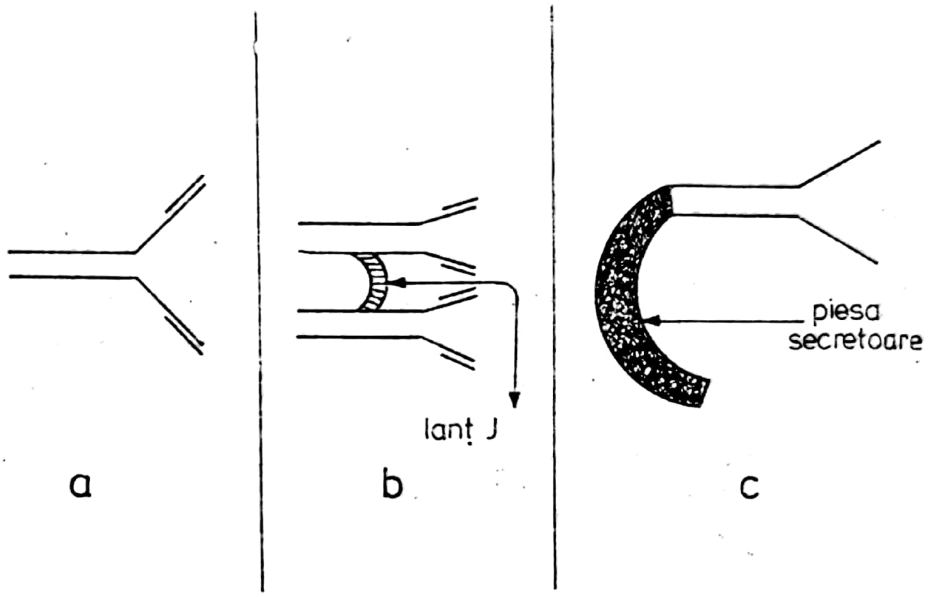


Fig. 11. — Diferite forme structurale de imunoglobuline IgA: *a*, IgA plasmatice, cu structură monomerică. *b*, IgA plasmatice, cu structură dimerică, *c*, IgA secretoare (la suprafaţa mucoaselor şi a pielii).

Proprietăţile legate de activitatea imună (specifică) sînt;

— Clasa IgA joacă un rol minor în imunitatea umorală sistemică.

— În schimb, anticorpii IgAs reprezintă cea mai importantă barieră de apărare umorală locală, la nivelul pielii şi mucoaselor, îndreptată împotriva antigenelor bacteriene, virale sau parazitare.

d) **Clasa IgD.** Anticorpii IgD se găsesc în concentraţie mică în umori. Funcţia lor este însă insuficient clarificată: participarea la formarea receptorilor limfocitari? rol în imunitate?

Un rol cert îl au anticorpii IgD în procesele de heteroimunizare mamă-făt în cazul incompatibilităţii din sistemul Rh (vezi punctul 2.2.1.2.).

e) **Clasa IgE.** Anticorpii IgE intervin în anumite stări de hipersensibilitate alergică (şi anume în hipersensibilitatea *atopică* sau *anafilactică* tip I). (Vezi punctul 1.3.10.2.1.)

Scanned with OKEN Scanner

1.3.3.2.3. Variaţiile structurale ale imunoglobulinelor corelate cu specificitatea de anticorpi

a) *Situsul combinativ* reprezintă acea regiune din molecula de imunoglobulină responsabilă de activitatea de anticorp (specifică). Mărimea situsului combinativ este variabilă în funcţie de specie, el reprezentînd circa 5 % din volumul întregii molecule de imunoglobulină. La formarea situsului combinativ participă fragmentul Fab. În detaliu este vorba de cooperarea între cele două porţiuni variabile ale lanţurilor L şi H vecine (VH şi VL).

Cercetări amănunţite asupra secvenţelor primare din cadrul segmentelor VH şi VL din constituţia imunoglobulinelor specifice IgG au demonstrat, aşa cum reiese din figura 12, că de-a lungul unei porţiuni variabile există mai multe subzone, după cum urmează:

— zone hipervariabile (*Hv*), în care ordinea aminoacizilor este diferită în funcţie de specificitatea de anticorp al imunoglobulinei;

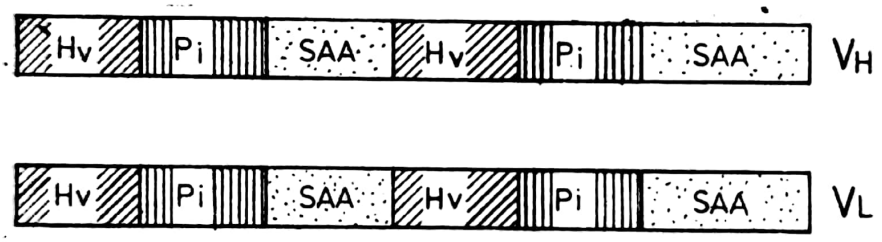


Fig. 12. — Subzonele din componenţa lanţurilor imunoglobulinice H şi L. Hv, zone hipervariabile; Pi, zone cu puncte invariante; SAA, zone cu subgrupe de aminoacizi.

— subzone cu puncte invariabile (*Pi*), în care apare periodic acelaşi aminoacid în structura primară a proteinei;

— subgrupe de aminoacizi (*SAA*), care reprezintă o anumită grupare de aminoacizi repetitivă la distanţe relativ egale de-a lungul porţiunii variabile (VH sau VL).

S-a stabilit că legarea unui antigen la nivelul situsului combinativ al anticorpului corespondent se face în felul următor (fig. 13) cele două porţiuni variabile (VH şi VL) se cudează una către cealaltă înglobînd între ele haptena antigenului. Această cudare (îndoire) are loc la nivelul subzonelor hipervariabile, folosind ca pivot subzonele cu puncte invariante. Subgrupele de aminoacizi acţionează „catalitic", în sensul de a asigura legarea totală a antigenului.

Scanned with OKEN Scanner

b) *Noțiunea de „domeniu"*, în accepțiunea imunologică, reprezintă un ansamblu de funcțiuni ale unui anume anticorp legat atît de activitatea imună propriu-zisă (cuplarea cu antigenul corespondent la nivelul situsului combinativ), cît și de alte atribute (prin fragmentul

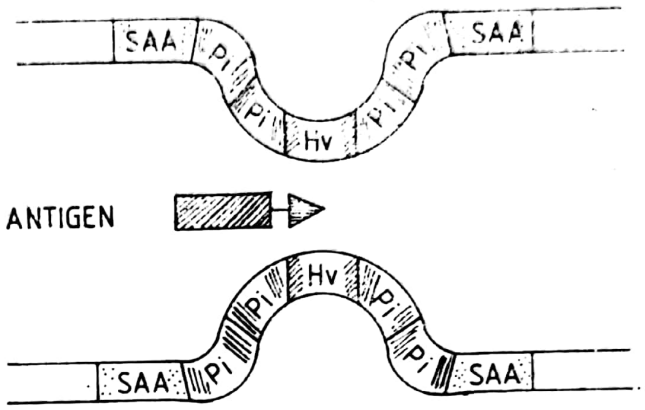


Fig. 13. — Modul de legare specifică a antigenului (haptenei) la nivelul situsului combinativ al imunoglobulinelor.

Fc și prin subfracțiunile porțiunii constante a lanțurilor H : CH1 CH2, CH3, CH4).

c) *Aviditate și afinitate. Aviditatea* este proprietatea moleculei de imunoglobulină de a lega antigenul la nivelul întregii molecule. Cu alte cuvinte, aviditatea este legată de valență, deci, molecula IgG care are două situsuri combinative (bivalentă) va fi mai puțin „avidă" decît molecula IgM, care are 5 situsuri combinative active (pentavalentă).

Afinitatea este proprietatea de legare a antigenului, mai puternic sau mai lax, la nivelul *unui singur situs combinativ* din molecula imunoglobulinică. Din acest punct de vedere, legătura IgG-antigen este mai puternică și mai stabilă decît legătura IgM-antigen care este mai laxă. Deci anticorpii IgG sînt mai „afini" decît anticorpii IgM.

Aceste două proprietăți își găsesc justificarea în rolul adaptativ al imunității umorale. Așa cum vom vedea mai jos (punctul 1.3.3.4.), în dinamica imunității umorale sistemice, prima barieră de apărare (anticorpi IgM) acționează prin cuplarea unei cantități mari de antigen, fără o fixare temeinică a acestuia, pentru ca, ulterior, să intervină anticorpii IgG, care produc fixarea stabilă a antigenului.

Scanned with OKEN Scanner

1.3.3.3. Biosinteza și catabolismul imunoglobulinelor

1.3.3.3.1. Biosinteza imunoglobulinelor

Astăzi se cunoaște că în interiorul celulei secretoare (plasmocit), sinteza anticorpului urmează o serie de secvențe și anume:

— Formarea independentă a lanțurilor H și L la nivelul ribozomilor, fiecare categorie de lanț fiind codificată de o genă separată din interiorul celulei secretoare.

— Asamblarea lanțurilor H și L la nivelul reticulului endoplasmatic plasmocitar.

— Polimerizarea sau dimerizarea (în cazul IgM sau IgA).

— Cuplarea componentei glucidice.

În ceea ce privește procesul de sinteză a imunoglobulinelor mai emarcăm și faptul că el se supune legii cibernetice a conexiunii inverse (*feedback*), în sensul că la un prag de concentrație înaltă de anticorpi în umori, formarea acestora este inhibată, iar în cazul scăderii nivelului de imunoglobuline în umori, biosinteza este accelerată.

În sfîrșit, notăm atestarea intervenției prioritare a nucleotidelor ciclice (AMP ciclic) în modelarea fină a procesului de biosinteză în celulele care secretă anticorpi.

1.3.3.3.2. Catabolismul imunoglobulinelor

Procesul de degradare și eliminare a anticorpilor din organism se realizează atît la nivelul ficatului, cît și în zone cu țesut reticulohistiocitar, și depinde de factori intrinseci și extrinseci.

Factorii *intrinseci* se referă la clasa și subclasa de imunoglobuline. Astfel, în cazul IgG, rata de catabolizare are o valoare redusă, în raport cu rata de sinteză, ceea ce se traduce prin existența unei concentrații relativ înalte în umori. Dimpotrivă, în cazul IgM, rata de catabolizare este mai mare, ceea ce are drept consecință prezența unui nivel mai scăzut în umori. În cazul altor clase de imunoglobuline plasmatice (IgD, IgA, IgE), ratele de catabolizare și de sinteză sînt apropiate sau de aceeași valoare, explicînd prezența acestor categorii imunoglobulinice în cantități minime în plasma normală.

Scanned with OKEN Scanner

Factorii *extrinseci* sînt pe de o parte specia şi alotipul iar pe de altă parte tipul metabolic. Astfel, la indivizii predominant anabolici, ratele de catabolizare imunoglobulinică sînt în general mai mici decît la indivizii hipercatabolici.

1.3.3.4. Dinamica imunoglobulinelor în răspunsul imun umoral

1.3.3.4.1. Imunitatea umorală sistemică

În figura 14, reprezentăm schematic evoluţia diferitelor clase imunoglobulinice în răspunsul umoral sistemic. În cadrul răspunsului *pri-*

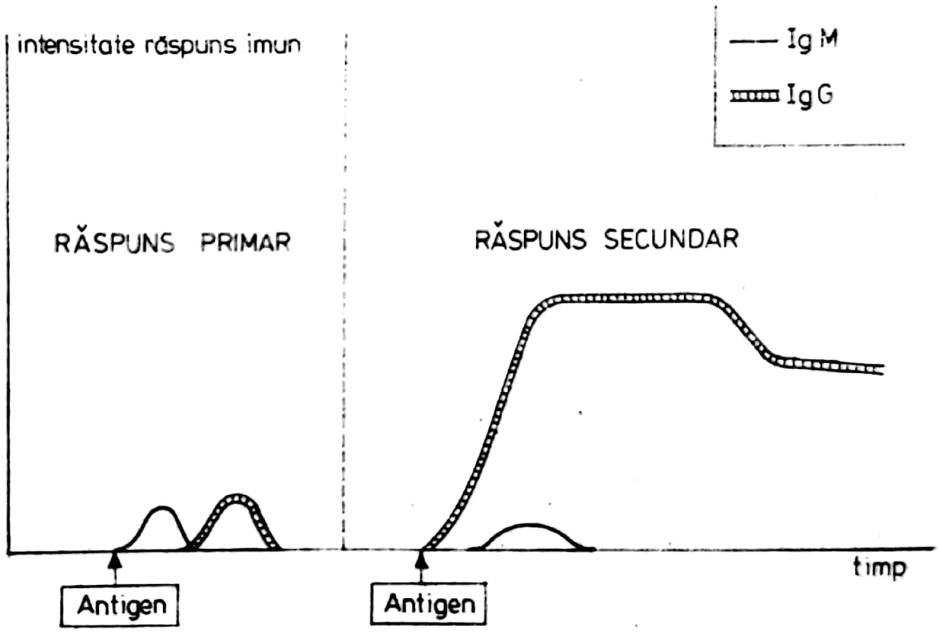


Fig. 14. — Schema dinamicii imunoglobulinelor în răspunsul imun umoral sistemic.

mar, după stimularea antigenică, prima categorie de anticorpi specifici care apar sînt anticorpii IgM a căror creştere ca titru este lentă şi au tendinţa de epuizare rapidă. Tot în răspunsul primar, pot interveni apoi anticorpii specifici IgG a căror curbă de evoluţie este similară : creştere lentă, progresivă a titrului cu epuizare relativ rapidă.

În cadrul răspunsului *secundar* (reacţia anamnestică), anticorpii IgM marchează o creştere uşoară cu epuizare rapidă sau lipsesc cu desăvîrşire, în timp ce anticorpii IgG urmează în general curba de

evoluţie a răspunsului imun propriu-zis : creştere intensă, rapidă, progresivă, atingerea unui nivel ridicat şi persistent, scăderea lentă pînă la un anumit prag de protecţie imună reziduală.

1.3.3.4.2. Imunitatea umorală locală

În cazul apărării imune umorale la suprafaţa mucoaselor sau tegumentului intervin prioritar anticorpii IgA secretori (IgAs). Stimularea antigenică la suprafaţa pielii sau mucoasei este transmisă formaţiunilor limfoide din vecinătatea epiteliului, unde are loc diferenţierea către celule secretoare (plasmocite). Anticorpii IgA eliberaţi din plasmocit traversează drumul invers dinspre formaţiunile limfoide locale către suprafaţa mucoasei. În cursul acestei traversări, molecula IgA se cuplează cu piesa secretoare (acccesorie), şi în această formă ajunge la nivelul mucoasei unde, în contact cu antigenul corespondent, îşi realizează rolul limitant specific.

Există numeroase exemple, în special în infecţiile bacteriene şi virale, care demonstrează că imunoglobulinele IgAs reprezintă cel mai important mijloc de protecţie imună umorală a tegumentului şi mucoaselor. Ne referim în special la mucoasa intestinală şi mucoasa căilor respiratorii superioare.

1.3.3.5. **Teorii asupra formării anticorpilor**

În ceea ce priveşte explicaţia formării şi specificităţii imunoglobulinelor au circulat două categorii de teorii şi anume : teoriile instructive şi respectiv selective.

Fără a intra în amănunte care ar depăşi aria acestui material, menţionăm că astăzi argumentele experimentale şi clinice pledează convingător în favoarea teoriilor din prima categorie, infirmîndu-le pe celelalte.

Potrivit teoriilor *instructive*, antigenul ar avea un rol modelator, adică ar „instrui" gena celulei secretoare sau imunoglobulina însăşi conferindu-i specificitate.

După teoriile *selective*, dintre care se desprinde mai ales *teoria selecţiei clonale*, antigenul nu are decît un rol selectiv, în sensul de a alege fie clone, fie gene ale celulei potenţial imunoformatoare, în situaţia în care un individ se naşte aprioric cu atîtea feluri de clone sau gene cîte categorii de antigen îl pot înconjura. Conform teoriei

Scanned with OKEN Scanner

selecţiei clonale, în timpul perioadei perinatale, clonele sau genele corespondente antigenelor self sînt inactivate sub acţiunea acestor antigene, urmînd ca ulterior să se matureze numai bagajul celular potenţial imunoformator corespunzător celulelor nonself, faţă de care în perioada adultă se va produce diferenţierea pentru răspuns imun umoral. În sprijinul teoriilor selective, se aduc astăzi o serie de date experimentale şi anume :

— absenţa antigenului în celula secretoare (plasmocit) ;

— complexitatea secvenţelor primare de aminoacizi în porţiunile VH şi VL din molecula imunoglobulinică, precum şi modificările suple ale situsului combinativ în cursul fixării specifice a antigenului (vezi mai sus, punctul 1.3.3.2.3) ;

— argumente genetice care atestă că răspunsul imun este diferit ca intensitate şi eficienţă faţă de acelaşi antigen, în funcţie de specie şi alotip ;

— demonstrarea faptului că o celulă secretoare prezintă capacitatea de a sintetiza un singur tip de anticorpi cu o anume specificitate imună.

1.3.3.6. **Testarea imunităţii umorale**

1.3.3.6.1. Principii metodologice ale reacţiilor antigen-anticorp

— În orice reacţie antigen-anticorp intră totdeauna două elemente : un sistem necunoscut pe care îl cercetăm faţă de un element standard cunoscut. În cazul în care elementul necunoscut este un antigen, avem de-a face cu o reacţie de *identificare* în care se pune în contact proba de identificat cu un ser imun standard de referinţă. Dacă elementul necunoscut este reprezentat de anticorpi, este vorba de o reacţie de *testare a nivelului imunităţii umorale*, în care este pusă în contact proba (ser, alte produse) cu un antigen cunoscut standard de referinţă.

— În orice reacţie antigen-anticorp trebuie realizată o concentraţie optimă între cei doi reactanţi (proba de antigen şi proba de anticorp), concentraţie care se indică în raport cu reacţia respectivă.

— Este necesară introducerea obligatorie de martori (negativi şi pozitivi) pentru a realiza o interpretare corectă a reacţiei-test.

Scanned with OKEN Scanner

— În cazul aprecierii prezenţei anticorpilor serici într-o infecţie este bine să se respecte principiul testării în dinamică, prin compararea titrului de anticorpi la un ser recoltat imediat după debut şi, respectiv, la un ser de la acelaşi bolnav, recoltat în săptămîna 3—4 după debut.

— Semnificaţia titrului de anticorpi în ser sau alt produs (LCR, secreţii externe etc.) trebuie evaluată diferenţiat în raport cu : tipul reacţiei antigen-anticorp, natura antigenului standard şi puritatea acestuia.

1.3.3.6.2. Tipuri de reacţii antigen-anticorp

Reacţiile antigen-anticorp cuprind atît reacţiile clasice, cît şi o serie de reacţii de înaltă tehnicitate.

a) *Reacţiile antigen-anticorp „clasice"* includ :

— ***Reacţia de aglutinare.*** În acest caz, antigenul este de regulă format din edificii microbiene integre (corpi bacterieni). Această reacţie are o utilizare largă în bacteriologie pentru identificarea serologică a unor bacterii izolate, precum şi în imunoserologie, pentru testarea anticorpilor aglutinanţi antibacterieni (febra tifoidă, ricketsioze, bruceloză etc.).

— *Reacţia de precipitare.* Se utilizează în diferite variante pentru testarea titrului diverselor componente proteice. În această reacţie, antigenul este reprezentat de substanţe solubile, difuzibile. Există numeroase variante de reacţii de precipitare dintre care menţionăm : *reacţiile de precipitare „în inel"* (reacţia de identificare medicolegală a speciei la petele de sînge ; reacţia Ascoli pentru diagnosticul antraxului, reacţia inelară în lapte pentru diagnosticul brucelozei etc.) ; reacţii de *precipitare în gel* (*imunodifuzia radială Mancini*), folosită pentru determinarea concentraţiei de imunoglobuline serice ; *dubla imunodifuzie în gel*, de mare utilitate pentru detectarea unor fracţiuni proteice, inclusiv a antigenului HBs în hepatita virală B ; *electroimunodifuzia sau contraimunoelectroforeza*, o variantă a dublei imunodifuzii în care placa gelificată cu cei doi reactanţi este aşezată într-un cîmp electric, folosită în special pentru detectarea antigenului hepatitic HBs ; *imunoelectroforeza*, principală metodă pentru aprecierea fracţiunilor proteice în plasmă.

— *Reacţia de neutralizare*, bazată pe capacitatea anticorpilor specifici de a împiedica un antigen să-şi manifeste efectele sale

Scanned with OKEN Scanner

particulare la o gazdă sensibilă, care este folosită fie pentru testarea anticorpilor antitoxici antidifterici, fie în diagnosticul virusologic sau imunobiologic al enterovirozelor.

— *Reacţia de fixare a complementului* în care intră două sisteme antigen-anticorp, unul indicator şi altul de testat, care îşi găseşte utilitatea în diagnosticul imunobiologic a numeroase infecţii bacteriene sau virale : sifilis, bruceloză, tifos exantematic, febră Q, adenoviroze.

— *Reacţia de inhibare a hemaglutinării*, care testează anticorpii capabili să împiedice efectul hemaglutinant al unui virus (exemplu : gripa).

— *Reacţia de imunofluorescenţă*, care foloseşte anticorpi standard marcaţi cu izotiocianat de fluoresceină, rezultatul fiind apreciat prin examinare la microscopul optic în lumină ultravioletă. Există două categorii de tehnici în imunofluorescenţă : tehnica directă şi tehnica indirectă. Exemple de utilitate a reacţiei imunofluorescenţei : identificarea în ţesuturi a diverselor antigene, self sau non-self, inclusiv virale ; diagnosticul imunoserologic al unor bacterioze sau viroze.

b) *Reacţii antigen-anticorp de înaltă tehnicitate.* În această categorie intră în special testele imunoenzimatice şi testul de radioimunoanaliză.

— *Testele imunoenzimatice* folosesc anticorpi standard marcaţi cu enzime (peroxidază, fosfatază alcalină etc.). Dintre aceste teste, notăm : *testul histoimunoenzimatic* (secţiuni de ţesut puse în contact cu anticorpi marcaţi cu enzimă şi cu substrat, plus indicator, pentru evidenţierea reacţiei enzimatice) ; *testul ELISA* (*enzyme-linked imunosorbent assay*). În acest test se utilizează ingrediente standard sau necunoscute care sînt fixate pe un perete de plastic (imunosorbent), anticorpii standard sînt marcaţi cu enzimă, aprecierea reacţiei făcîndu-se prin introducerea unui substrat cu indicator şi citirea extincţiei la spectrofotometru la o anumită lungime de undă. Valorile extincţiei sînt proporţionale cu intensitatea reacţiei enzimatice şi, respectiv, cu gradul de realizare a reacţiei imune. Datorită sensibilităţii sale, testul ELISA cîştigă tot mai mult teren în diagnosticul microbiologic sau imunoserologic al unor infecţii : gripă, hepatită virală B, infecţii cu virusuri din grupul Herpes, rubeolă, rujeolă etc.

Scanned with OKEN Scanner

— *Radioimunoanaliza (RIA)* este un test care folosește antigene standard marcate cu izotopi (I^{125}).Rezultatul se apreciază prin măsurare radiometrică pe baza unei curbe de competiție.

1.3.4. Răspunsul imun celular

1.3.4.1. Aspecte fundamentale

Antigene inductoare. Imunitatea celulară intervine prioritar față de următoarele categorii de antigene :

— tumori conjunctive sau epiteliale ;

— celule non-self, de tipul grefelor sau transplantelor de organ ;

— unele bacterii care determină infecții cronice, cu tendința de localizare a germenilor în profunzimea țesuturilor sau organelor : bacilul tuberculos, brucelele, treponema sifilisului etc. ;

— unele virusuri, care determină fie infecții „lente", cu localizare predominant nervoasă, fie infecții acute și subacute în care răspunsul imun celular se asociază răspunsului imun umoral în apărarea specifică antivirală (virusul gripal, enterovirusurile, virusul rujeolei, virusul rubeolei, virusurile din grupul Herpes).

Localizarea antigenului. De regulă, în răspunsul imun celular antigenul se localizează profund, aproape de poarta de intrare în organism și la oarecare distanță de locul de formare a verigii efectoare. Zona de localizare a antigenului este sediul unui aspect de apărare caracteristic numit „granulom".

Veriga efectoare. Spre deosebire de imunitatea umorală, în imunitatea celulară veriga efectoare nu este realizată de proteine specifice, ci de o categorie de celule numite *limfocite T imune* sau *efectoare.*

Locul conflictului imun. Întîlnirea între antigen și veriga efectoare are loc de obicei aproape de zona de cantonare a antigenului.

1.3.4.2. Mecanismele imunității celulare

Așa cum se va vedea în cadrul altui subcapitol (punctul 1.3.5), în urma recunoașterii antigenului, limfocitul T se diferențiază prin activare, urmînd o suită de procese soldate în final cu apariția unor

Scanned with OKEN Scanner

celule numite *limfocite T imune* sau *efectoare*. Aceste celule care reprezintă, aşa cum arătam mai sus, veriga efectoare în răspunsul imun celular, se deplasează prin circulaţia sanguină şi limfatică pînă la zona de cantonare a antigenului. Conflictul între antigen şi limfocitul T efector este urmat de eliberarea de către limfocitul T efector a unor substanţe cu activitate specifică numite *limfochine*. Redăm mai jos cele mai importante limfochine cunoscute pînă astăzi.

1.3.4.2.1. Limfochine care acţionează pe limfocit

a) *Factorul de recrutare sau de transfer* asigură cîştigarea competenţei de a recunoaşte antigenul de către alte limfocite T din focarul de imunitate celulară. Cu alte cuvinte, factorul de recrutare măreşte eşantionul de celule capabile de diferenţiere în imunitatea celulară.

b) *Factorul mitogen* este o limfochină care accelerează procesul de activare a limfocitului T antigen-reactiv după recunoaşterea antigenului, adică potenţează procesul de transformare blastică limfocitară (creşterea sintezei de ADN limfocitar, apariţia generaţiilor de imunoblaşti) (pentru amănunte, vezi punctul 1.3.5).

c) *Limfotoxina* este limfochina care acţionează în complexul imun celular faţă de celule non-self (grefe, tumori). Sub acţiunea acestui factor, la contactul limfocit T efector /celulă antigen (celulă-ţintă), se produc modificări biochimice şi morfologice ale celulei-ţintă, avînd în final drept rezultat liza celulei. Acest proces poartă numele de *citotoxicitate imună directă*.

d) *Factorul inhibitor al aderenţei leucocitare* determină inhibiţia procesului de aderare spontană a leucocitelor la suprafaţa endoteliului capilar şi astfel, indirect, duce la accelerarea fluxului limfocitar în interiorul vasului capilar. Evident, circulînd mai multe limfocite T în zona procesului imun celular, vor exista mai multe şanse de recunoaştere a antigenului în vederea realizării răspunsului specific optim.

1.3.4.2.2. Limfochine care acţionează pe macrofag

Aşa cum vom vedea în cadrul subcapitolului 1.3.5, macrofagul are un rol deosebit în orice formă de imunitate, cu precădere în imunitatea celulară. De aceea se impune studiul limfochinelor care acţio-

neză prin intermediul macrofagului, pentru a realiza o imagine reală asupra mecanismelor răspunsului imun celular. Dintre aceste limfochine menţionăm :

a) *Factorul inhibitor al migrării macrofagelor* (FIM). Factorul FIM reprezintă cea mai importantă limfochină şi cea mai bine cunoscută. Se ştie astăzi că FIM este o proteină heterogenă, conţinînd molecule cu greutăţi moleculare diferite, între 12 000 şi 80 000 daltoni. FIM este formată din oligomeri bogaţi în acid sialic fapt demonstrat prin marea sensibilitate a acestei limfochine la tratamentul cu neuraminidază (enzimă care atacă situsurile de acid sialic). Din punct de vedere funcţional, factorul FIM încetineşte tendinţa spontană a macrofagelor de a migra dincolo de focarul de imunitate celulară. Cu cît macrofagele vor rămîne mai mult în acest focar, datorită acţiunii FIM, se va prelucra mai mult antigen capabil de a fi recunoscut într-o formă adecvată de către limfocitul T antigen-reactiv. (Vezi mai jos punctul 1.3.5)

b) *Factorul de activare a macrofagelor* (*FAM*). Limfochina FAM a fost identificată mai ales în focarul de imunitate celulară antituberculoasă. Sub acţiunea acestui factor, bacilii-antigen înglobaţi în fagolizozomii macrofagului sînt digeraţi rapid. De aici putem deduce că factorul FAM ajută la desfăşurarea deplină a procesului de fagocitare a antigenului de către macrofag, care precede recunoaşterea antigenului de către limfocitul T antigen-reactiv.

c) *Factorul de armare a macrofagelor* (*FARM*). Limfochina FARM acţionează în special în imunitatea anticanceroasă şi în imunitatea de heterotransplantare (vezi punctele 2.4.2.2. şi 2.3.1.3.). FARM intervine în conflictul dintre macrofag şi celula-ţintă (tumorală).

Macrofagul „armat" de către FARM determină un efect citotoxic asupra celulei-ţintă cu care a venit în contact. În final, procesul se soldează cu liza celulei-antigen. Acest fenomen poartă numele de *citotoxicitate imună indirectă*, pentru a-l deosebi de *citotoxicitatea imună directă* prin limfotoxină.

d) *Factorul de agregare a macrofagelor*. Această limfochină determină aglomerarea macrofagelor sub formă de grămezi în focarul de imunitate celulară ceea ce reprezintă mai mult antigen prelucrat în vederea oferirii lui pentru recunoaştere limfocitului T antigen-reactiv.

Scanned with OKEN Scanner

1.3.4.2.3. Factorii chimiotactici

Sînt limfochine a căror structură şi funcţie individualizată nu au putut fi deocamdată precizate, dar care în ansamblu determină accelerarea procesului de diapedeză leucocitară (traversarea pereţilor capilari de către leucocite, în special de către macrofage şi limfocite T), dinspre patul vascular înspre spaţiul intercelular. Acest fenomen poartă numele de *activare specifică a diapedezei.*

1.3.4.2.4. Factorii dermoreactivi

Deşi unii autori consideră că fenomenele cutanate din reacţiile de imunitate celulară (vezi punctul 1.3.4.3.1), reprezintă rezultanta acţiunii mai multor limfochine (FIM, FAM, factorul de agregare a macrofagelor, factori chimiotactici), alţii includ într-o categorie separată *factorii dermoreactivi*, responsabili de realizarea reacţiilor de hipersensibilitate întîrziată (imunitate celulară).

1.3.4.3. **Testarea imunităţii celulare**

Prezenţa şi intensitatea răspunsului imun celular pot fi cercetate prin teste *in vivo* şi *in vitro.*

1.3.4.3.1. Teste **in vivo** pentru aprecierea imunităţii celulare

Se cunosc intradermoreacţiile de tip tuberculinic. În această categorie, în afară de reacţia la tuberculină pentru determinarea stării de imunitate celulară la tuberculoză, intră şi alte asemenea teste (testul de brucelină, testul la toxoplasmină etc.). Indiferent de antigenul-test folosit, aceste reacţii se datoresc intervenţiei mai multor limfochine (FIM, FAM, factori chimiotactici, factori dermoreactivi) şi au următoarele caracteristici :

— apariţia tardivă (după 24—48 ore de la injectarea intradermică a antigenului-test) ;

— din punct de vedere macroscopic, reacţia pozitivă se traduce prin eritem, papulă sau chiar edem ;

Scanned with OKEN Scanner

— din punct de vedere microscopic, în zona cu reacţie pozitivă se notează un edem moderat, însoţit de un infiltrat masiv cu limfocite T şi macrofage.

1.3.4.3.2. Teste **in vitro** pentru aprecierea imunităţii celulare

Testele *in vitro*, deşi reclamă o tehnicitate deosebită şi material pretenţios, pot fi abordate cu succes la nivelul laboratoarelor cu dotare medie. Dintre aceste teste menţionăm :

a) *Transformarea blastică a limfocitelor T.* Suspensia de limfocite T aparţinînd subiectului uman de testat, obţinută prin separare în gradient (vezi punctul 1.3.5), este pusă în contact *in vitro* cu antigenul faţă de care se urmăreşte testarea imunităţii celulare. Limfocitele sînt apoi cultivate într-un mediu adecvat timp de 5—6 zile. Rezultatele transformării blastice limfocitare pot fi exprimate în două moduri şi anume :

— *Examinarea morfologică.* La expirarea termenului (5—6 zile), se face un frotiu din sedimentul celular după centrifugare, se colorează cu coloranţi uzuali şi se apreciază microscopic procentul de imunoblaşti (celule tinere, cu nucleu mare care conţin în interior 1—2 nucleoli şi cromatina dispusă în reţea, citoplasma fiind bogată în ARN). Acest mod de apreciere, deşi mai comod, dă indicaţii grosiere asupra procesului de transformare blastică.

— *Determinarea ratei de sinteză crescută a ADN limfocitar.* La expirarea termenului (5—6 zile după stimularea antigenică), în cultura de limfocite T se adaugă un precursor ADN, marcat cu izotopi (timidină tritiată). Aprecierea se face fie prin *histoautografie*, fie *radiometric*, creşterea sintezei ADN (nivel înalt de încorporare a izotopului în celule) indicînd un proces de transformare blastică prezent, deci pozitivitatea testului.

b) *Inhibiţia migrării macrofagelor.* Deşi există mai multe variante, acest test care apreciază intervenţia limfochinei FIM se face de regulă cu tuburi capilare de sticlă bine calibrate. Suspensia de celule (limfocite + macrofage) obţinută din sîngele periferic al

Scanned with OKEN Scanner

subiectului este pusă în tuburi capilare de sticlă care, la rîndul lor, sînt plasate în camere de plastic cu mediu de creștere. Unele probe sînt suplimentate cu antigen, altele nu. După incubare timp de 24—48 ore la 37°C, în atmosferă de CO_2 5%, se apreciază rezultatul. La probele fără antigen în mod obligatoriu la capătul capilarului apare o „coroană" de macrofage. Dacă testul este pozitiv, la proba cu antigen coroana macrofagică de la capătul capilarului este redusă ca dimensiuni. Măsurîndu-se aria celor două coroane de migrare (microscopic sau prin planimetrie), se poate aprecia testul după următoarea formulă : index IMM $= \frac{M_x}{M_0}$, în care index IMM = index inhibiție migrare macrofage ; M_x = aria de migrare la proba cu antigen ; M_0 = aria de migrare la proba fără antigen.
Valoarea indexului IMM este semnificativ pozitivă la valori sub 0,70.

c) *Testul de citotoxicitate imună.* Acest test se folosește pentru aprecierea imunității celulare în tumori sau în imunitatea de heterotransplantare (grefe), și testează eliberarea de limfotoxină de către limfocitele T efectorii în contact cu celula-„țintă" antigen. Există mai multe variante tehnice ale testului de citotoxicitate imună dintre care menționăm :

— Punerea în contact a limfocitelor T de la subiectul de testat cu celule-țintă crescute în cultură pe un perete solid (monostrat) cu examinare morfologică ulterioară la microscop a lacunelor apărute în monostratul de celule-țintă și, respectiv, a alterărilor celulare microscopice (de la cariorexis la cariopicnoză nucleară). Această metodă este destul de subiectivă și dă indicații orientative.

— *Măsurare radiometrică.* Celulele-țintă sînt în prealabil marcate cu un izotop (Cr^{51}), după care sînt puse în contact cu limfocitele T de la subiectul de testat. Se apreciază după cîteva ore nivelul izotopului în mediul celulelor-țintă. Testul se bazează pe faptul că celulele-țintă alterate prin conflict imun cu limfocitele T efectoare eliberează în mediu izotopul. Cu alte cuvinte, un test pozitiv se va traduce printr-o curbă de creștere progresivă a nivelului de izotop în mediu.

Scanned with OKEN Scanner

1.3.5. Bazele celulare ale răspunsului imun umoral și celular

1.3.5.1. Tipuri celulare implicate în răspunsul imun

1.3.5.1.1. Sistemele timo- și bursodependent. Limfocitele T și B

a) *Sistemul timodependent.* Limfocitele timodependente își au originea în celula-matcă din măduva osoasă care este omnipotentă. Această celulă ajunge în timus unde staționează un timp și își cîștigă așa-numita *competență imună*, adică proprietatea de a putea recunoaște un antigen. Acest proces de realizare a „competenței" în timus se datorește unui complex de factori numit HIM (*hemopoietic inducing microenvironment*).

Dintre acești factori de maturare limfocitară în timus, menționăm : factorul timic seric ; factorul timic umoral ; timopoietinele 1 și 2 ; timozina-alfa.

Factorul timic seric și factorul timic umoral acționează prin activarea moleculelor ciclice, de tipul aminomonofosfatului ciclic (cAMP) în celula-matcă, în vreme ce timopoietinele și timozina-alfa acționează atît precoce, prin stimularea maturării celulei-matcă în timus, cît și tardiv asupra sistemului timodependent maturat.

După cîștigarea competenței, limfocitele denumite *limfocite T* (timodependente) părăsesc timusul și ajung în circulația periferică. Aici, majoritatea lor sînt libere în limfă și sîngele periferic (60—80% la om), iar o altă parte din ele se antrenează în așa-numitele „zone timodependente" din organele limfoide secundare. Aceste zone sînt reprezentante în ganglionii limfatici de către sinusurile paracorticale, iar în splină de către teritoriile periarteriolare din foliculii pulpei albe. Localizarea acestor zone a fost posibilă experimental, datorită faptului că ablația timică duce la sporirea numerică a celulelor din zonele timodependente ganglionare și splenice.

Din punct de vedere al funcției imune, limfocitele T sînt celule cu viață lungă și răspund integral de realizarea imunității celulare, cooperînd cu limfocitele B în realizarea adaptativă și la nivel corespunzător a imunității umorale.

b) *Sistemul bursodependent.* La originea acestui sistem stă, de asemenea, celula-matcă omnipotentă din măduva osoasă. După

Scanned with OKEN Scanner

trecerea în circulaţie, însă, această celulă se cantonează în aşa-numitele formaţiuni echivalente bursei lui Fabricius de la păsări. La om localizarea probabilă a acestor formaţiuni este la nivelul foliculilor limfatici care însoţesc tubul digestiv (mai ales nazofaringele şi intestinul). După părăsirea formaţiunilor echivalente bursei, limfocitele cîştigă „competenţă", devenind *limfocite B* (bursodependente).

Limfocitele B se găsesc într-o proporţie mai mică în circulaţie (35—45% în sîngele periferic), majoritatea lor găsindu-se în aşa-numitele zone bursodependente din organele limfoide secundare şi anume în foliculii corticalei şi cordoanele medularei în cazul ganglionului limfatic şi, respectiv, la periferia foliculilor pulpei albe în cazul splinei.

Funcţional, limfocitele B sînt celule cu viaţă scurtă. Ele răspund de diferenţierea celulară în vederea răspunsului imun umoral, dar nu participă la realizarea imunităţii celulare.

c) *Proporţia de limfocite T şi B la om. Markeri limfocitari T şi B.* În limfă se găsesc 85—95% limfocite T şi 2—5% limfocite B. În sîngele periferic se găsesc 65—70% limfocite T şi 35—45% limfocite B. În splină se găsesc circa 30—35% limfocite T şi 65—70% limfocite B.

În ganglionii limfatici predomină însă limfocitele T (60%), limfocitele B, reprezentînd pînă la 40%.

În ceea ce priveşte decelarea categoriilor de limfocite T sau B se folosesc aşa-numiţii markeri limfocitari pentru populaţiile majore T şi B care sînt figuraţi în tabelul de mai jos.

Între markerii limfocitari T şi B, cei mai importanţi sînt: *Teta (Thy-1)*, pozitiv pentru limfocitele T şi negativ pentru limfocitele B; *markerul E* (pozitiv pentru limfocitele T şi negativ pentru limfocitele B), care constă în capacitatea spontană a limfocitelor T umane de a fixa pe suprafaţa lor eritrocite de berbec; *prezenţa receptorilor imunoglobulinici* (negativ pentru limfocitele T şi pozitiv pentru limfocitele B), decelaţi prin imunofluorescenţă în prezenţa serurilor anti-Fab umane; *markerii antigenici Ly* (pozitivi la limfocitele T şi negativi la limfocitele B), decelaţi prin anticorpi monoclonali standard; *markerul EAC* (pozitiv pentru limfocitele B şi negativ pentru limfocitele T) care se decelează prin rozetele EAC.

Marker limfocitar	Limfocite T	Limfocite B	Testare
Teta (Thy—1)	+	—	anticorpi monoclonali anti--Thy—1
E (rozetare cu eritrocite de berbec)	+	—	rozetare E de mică afinitate
Receptor Ig (Fab)	—	+	imunofluorescență cu ser anti-Fab anti-om
Receptor Fc (pentru anticorp antieritrocite berbec)	—	+	rozetare EA (eritrocite de berbec + anticorpi antieritrocitari)
Receptor C (pentru complement C3)	—	+	rozetare EAC (eritrocite de berbec + anticorpi antieritrocitari + C3)
Ia (receptor asociat locusului I din sistemul major de histocompatibilitate H—2 la șoarece)	—	+	anticorpi monoclonali anti-Ia (test citotoxicitate)
Lyt—1,2,3	+	—	anticorpi anti-Lyt 1,2,3 (test citotoxicitate)

Pe baza acestor markeri se folosește și metodologia de separare și individualizare a celor două populații majoritare de limfocite T și B.

În esență, este vorba de realizarea separării limfocitelor de alte elemente figurate prin centrifugarea în gradient de densitate (tehnica cu Ficoll-Hypaque), urmată de depistarea diferiților markeri caracteristici.

Pentru decelarea proporției de limfocite T, se utilizează cel mai frecvent rozetarea E de mică afinitate (determinarea proporției de limfocite care fixează pe suprafața lor spontan eritrocite de berbec, după 24 ore incubație). Pentru limfocitele B, cei mai frecvent folosiți dintre markeri, din punct de vedere metodologic, sînt markerii imunoglobulinici, decelați prin imunofluorescență în prezența serurilor anti-Fab-anti-om, și respectiv, rozetarea EAC (determinarea capacității limfocitelor de a fixa eritrocite de oaie acoperite cu anticorpi, în prezența complementului).

Scanned with OKEN Scanner

1.3.5.1.2. Modificările limfocitelor T și B în cursul răspunsului imun

a) *Date experimentale.* Ablația timică determină la animal următoarele modificări în capacitatea imună: abolirea completă a răspunsului imun celular (tolerarea heterografelor; negativarea intradermoreacțiilor care traduc hipersensibilitatea întîrziată de tip tuberculinic); reducerea din intensitate, fără abolire completă, a răspunsului imun umoral.

Bursectomia (îndepărtarea bursei Fabricius) la păsări este urmată de suprimarea totală a răspunsului imun umoral, fără nici o influențare vizibilă a răspunsului imun celular.

Din aceste experiențe s-a conchis că sistemul bursodependent răspunde de imunitatea umorală, fiind influențat prin cooperare de sistemul timodependent, în timp ce sistemul timodependent răspunde în exclusivitate de imunitatea celulară.

b) *Secvențe celulare în răspunsul imun umoral.* Limfocitul B antigen-reactiv recunoaște antigenul datorită receptorilor imunoglobulinici de pe suprafața sa. În urma procesului de recunoaștere are loc o suită de fenomene cunoscute generic sub numele de *transformare blastică a limfocitelor B.* Mai întîi se produce activarea sintezei de ADN limfocitar, urmată de proliferarea celulară, cu apariția în generații succesive a unor celule numite *imunoblaști*, avînd caracteristicile unei celule tinere (volum mare, nucleu cu cromatina dispusă reticular și cu prezența a 1—2 nucleoli, citoplasma abundentă și foarte bogată în ARN). Imunoblastul poate evolua fie către un *limfocit B de memorie* (capabil ca la un nou contact cu același antigen să se diferențieze pentru răspuns imun secundar), fie spre celula finală secretoare de anticorpi numită *plasmocit.* Plasmocitul este o celulă cu nucleul avînd cromatina dispusă „în spițe de roată" și conținînd un reticul endoplasmic foarte bogat, dispus ca foile de ceapă. Plasmocitul, la rîndul său, este capabil să secrete anticorpul specific antigenului care a declanșat procesul de diferențiere a limfocitului B inițial.

c) *Secvențe celulare în răspunsul imun celular.* În acest caz, celula care recunoaște antigenul este un limfocit T antigen-reactiv. După recunoașterea antigenului, această celulă suferă fenomenul de *transformare blastică a limfocitului T*, constînd din accelerarea sintezei de ADN și diviziuni succesive cu apariția de *imunoblaști.* Imunoblaștii derivați dintr-un limfocit T pot evolua fie către un *limfocit*

Scanned with OKEN Scanner

T de memorie (apt de a se diferenția ulterior, în prezența aceluiași antigen pentru răspuns imun celular secundar), fie către o celulă finală care, de această dată, este un *limfocit T efector* sau *imun*. Limfocitul T efector ia contact cu antigenul, secretînd substanțe imunoactive (limfochine), prin intermediul cărora se realizează cortegiul caracteristic răspunsului imun mediat celular (vezi punctul 1.3.4) În figura 15, prezentăm schematic secvențele celulare în imunitatea umorală și celulară.

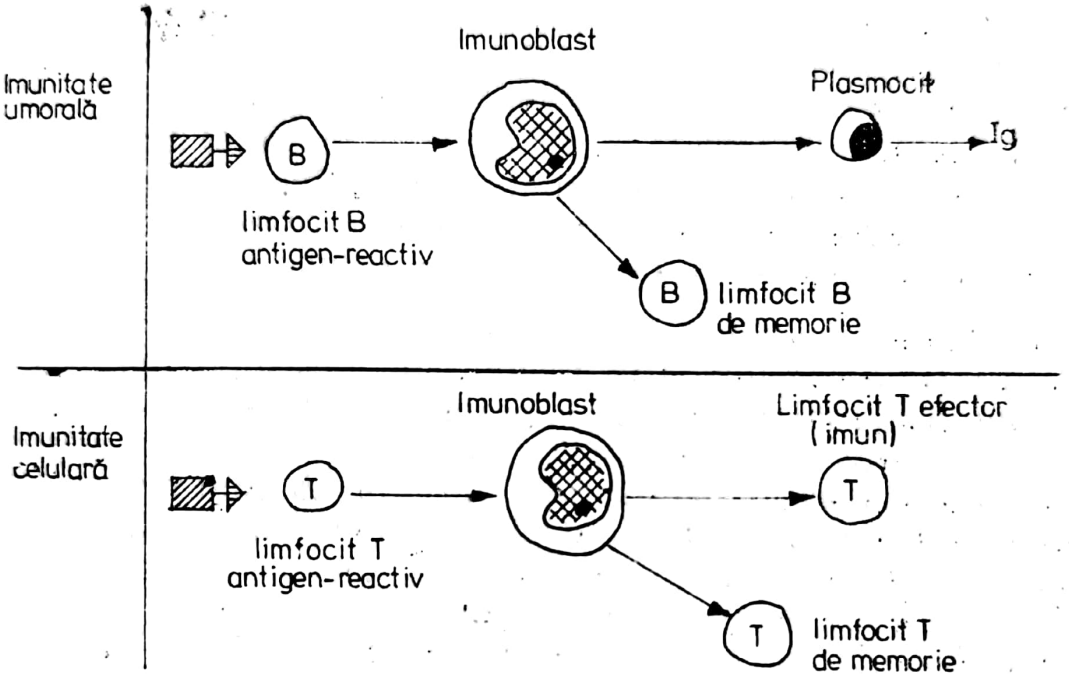


Fig. 15. — Secvențele modificărilor celulare în cursul răspunsului imun umoral și celular.

d) *Recunoașterea antigenică.* Recunoașterea antigenică de către *limfocitul B antigen-reactiv* se realizează datorită receptorilor de natură imunoglobulinică de la suprafața acestei celule. S-a stabilit că procesul intim de recunoaștere se datorește unui semnal în care sînt implicate moleculele ciclice de tipul AMPc și care declanșează începutul procesului de transformare blastică limfocitară. Specificitatea strictă a receptorilor limfocitului B pentru un anumit antigen vine în sprijinul teoriilor selective asupra formării anticorpilor. (Vezi punctul 1.3.3.5.)

În ceea ce privește recunoașterea de către limfocitul T antigen-reactiv în imunitatea celulară, problema este mai controversată, deoarece receptorii limfocitari sînt situați mai profund la nivelul

celulei T. Se știe că acești receptori se găsesc topografic foarte aproape de antigenele de histocompatibilitate (vezi punctul 2.3.1).

În ultima vreme, s-a imaginat un model de stimulare antigenică a limfocitului T, și anume : se presupune că în procesul de recunoaștere există de fapt două celule, o celulă T antigen-reactivă și o celulă T stimulatoare. Antigenul s-ar atașa cu ajutorul purtătorului din molecula sa, pe suprafața celulei stimulatoare, oferind fracțiunea haptenică pentru recunoaștere celulei T antigen-reactive (semnalul 1). Acest semnal nu este urmat de stimularea propriu-zisă a celulei T antigen-reactive decît dacă celula T stimulatoare emană un semnal 2 asupra receptorilor pentru recunoaștere. Un atare model ar explica finețea și promptitudinea procesului de recunoaștere a antigenelor timodependente.

1.3.5.1.3. Populații și subpopulații de celule care intervin în răspunsul imun

a) *Limfocitele T* răspund integral de imunitatea celulară și cooperează cu limfocitele B în realizarea imunității prin anticorpi. Există mai multe categorii de limfocite T și anume :

— *limfocitul T antigen-reactiv*, care recunoaște antigenul și se diferențiază prin transformare blastică ;

— *limfocitul T de memorie*, care derivă din imunoblast în cursul răspunsului imun primar și este capabil să recunoască antigenul specific pentru a se diferenția în cursul unui răspuns imun secundar ;

— *limfocitul T efector* (*imun* sau *sensibilizat*), reprezentînd celula finală derivată din imunoblast și care ia contact cu antigenul specific, fiind capabilă să elibereze limfochine ;

— *limfocitele T imunomodulatoare*. Există două asemenea categorii de limfocite T și anume : limfocitele T ajutătoare (helper) denumite și *Th* și, respectiv, limfocitele T supresoare, denumite și *Ts*.

Aceste subpopulații limfocitare au o importanță majoră în adaptarea răspunsului imun umoral și celular. Limfocitele Th cooperează cu limfocitele T sau B antigen-reactive, potențînd nivelul și rapiditatea răspunsului imun. Pe de altă parte, limfocitele Ts au o acțiune frenatoare asupra răspunsului imun atunci cînd acesta devine exagerat (pentru amănunte, vezi punctul 1.3.5.2.3).

Scanned with OKEN Scanner

Determinarea subpopulaţiilor de limfocite T are astăzi o mare importanţă şi se bazează pe existenţa a diferiţi markeri în cadrul populaţiei limfocitare T. În tabelul de mai jos prezentăm cîţiva markeri mai importanţi pentru determinarea subpopulaţiilor de limfocite T.

Marker limfocitar	Limfocite Th	Limfocite Ts	Limfocite T efectorii	Testare
Ly : *Ly-1*	+	−	−	anticorpi monoclonali (test citotoxicitate)
Ly-2,3	−	+	+	
Receptor Fc (pentru anticorpi anti-eritrocite bovine) *IgM*	+	−		rozetare EAM (eritrocite bovine + anticorpi IgM antieritrocitari)
IgG	−	+		rozetare EAG (eritrocite bovine + anticorpi IgG antieritrocitari)

b) *Limfocitele B* conţin două subpopulaţii mai bine cunoscute şi anume :

— *limfocitul B antigen-reactiv*, care recunoaşte antigenul şi se diferenţiază prin transformare blastică în vederea răspunsului imun în anticorpi ;

— *limfocitul B de memorie*, derivat din imunoblast, în cursul răspunsului imun primar şi care este apt de diferenţiere ulterioară în prezenţa aceluiaşi tip de antigen pentru realizarea reacţiei anamnestice.

Experienţe mai recente au arătat că limfocitele B conţin două feluri de subpopulaţii, dintre care una populează rapid ganglionii limfatici, iar cealaltă îi populează mai lent.

c) *Limfocitele „nule"* reprezintă mai puţin de 10% din totalul limfocitelor periferice. Ele nu poartă markeri nici de celule B (receptori imunoglobulinici la suprafaţă) nici de celule T (markeri E). Din punct de vedere funcţional, limfocitele „nule", în pofida numelui derutant, sînt extrem de importante, ele intervenind la diferite niveluri în imunitate şi anume :

— ca precursori de limfocite B ;

Scanned with OKEN Scanner

— ca precursori de granulocite neutrofile (şi virtual ca potenţatori ai fagocitozei microbiene);

— ca celule cu activitate imunosupresoare, în anumite condiţii, prin cooperare cu limfocitele Ts.

d) *Celulele ucigaşe* [*celule K* (*killer*)] nu fac parte din limfocitele T, fiind capabile să producă în anumite condiţii liza celulelor tumorale sau a altor celule-ţintă străine (non-self). Activitatea celulelor K poartă numele de *citotoxicitate dependentă de anticorpi* sau *ADCC* (*antibody-dependent cell-cytotoxicity*). Acest proces constă în faptul că celula K nu atacă litic celula tumorală ţintă decît dacă aceasta este acoperită cu anticorpi. Din figura 16 reiese că anticorpii antitumorali se aşază prin situsurile lor de combinare (fragmentele Fab) pe situsurile antigenice corespondente de la periferia celulei tumorale. Celula K intervine prin receptorii săi Fc care se ataşează pe fragmentele Fc ale anticorpilor alipiţi de celula tumorală. Numai în aceste condiţii, celula K produce liza specifică a celulei tumorale.

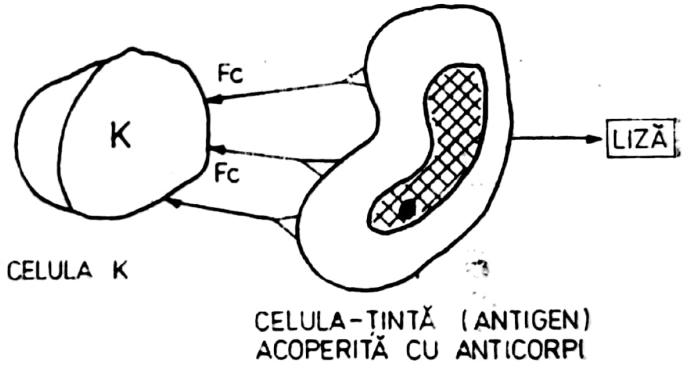


Fig. 16. — Mecanismul acţiunii litice a celulelor ucigaşe (*K*) prin citotoxicitate imună dependentă de anticorpi.

e) *Celulele NC şi NK* se numesc „natural-citotoxice" (NC) sau „natural-ucigaşe" (NK = *natural killer*). Ele apar natural în cursul dezvoltării sistemului imunoformator şi prezintă pe suprafaţa lor atît receptori Fc, ca şi celulele K, cît şi alţi receptori faţă de anumite celule străine, în special tumorale. Celulele NC şi NK acţionează direct asupra celulei tumorale prin efect litic, deci fără intermediul anticorpilor specifici antitumorali.

S-a stabilit că celulele NC şi NK reprezintă o barieră importantă naturală împotriva celulelor tumorale. Merită subliniat diferenţa esenţială între celulele K, pe de o parte, şi celulele NC şi NK, pe de altă parte: primele sînt celule *imune*, acţionînd numai pe o celulă-antigen acoperită cu anticorpi, celelalte sînt celule *naturale*, care acţionează ca o barieră primordială de respingere a unui ţesut

străin. Se ştie că activitatea NC şi NK este stimulată de unii adjuvanţi (BCG, *Corynebacterium parvum* şi îndeosebi de către interferon). În secţiunea consacrată imunologiei şi imunopatologiei bolii canceroase se va reveni asupra rolului esenţial al celulelor NC şi NK în imunitatea antitumorală (punctul 2.4.2.4).

f) *Macrofagele* reprezintă celule mari, aparţinînd sistemului reticulohistiocitar. Ele au rol în fagocitarea particulelor macromoleculare, precum şi în prelucrarea antigenului în vederea recunoaşterii lui de către limfocitul B sau T antigen-reactiv. Pe de altă parte, macrofagul secretă o serie de substanţe imunoactive denumite *monochine* cu rol complex în imunitatea umorală sau celulară (vezi punctul 1.3.5.2.1).

Macrofagele se găsesc în special în splină şi mai puţin în ganglionii limfatici. Ele derivă dintr-o celulă-matcă medulară a cărei maturare se produce sub acţiunea unor factori umorali.

1.3.5.2. Interacţiuni celulare în răspunsul imun

1.3.5.2.1. Interacţiuni între macrofag şi limfocit

Deşi macrofagul nu reprezintă o celulă capabilă de diferenţiere specifică în imunitate, totuşi el intervine complex prin interferenţele sale cu funcţiile majore ale limfocitului. Această intervenţie poate fi sistematizată astfel :

a) *Prelucrarea antigenului.* Experienţele au demonstrat faptul că un antigen este recunoscut mai rapid şi mai eficient de către limfocitul B sau T antigen-reactiv, dacă în prealabil el a fost prelucrat în macrofag. Acest proces de prelucrare constă pe de o parte în eliminarea balastului nespecific din molecula antigenului, iar pe de altă parte în concentrarea grupărilor determinante ale haptenei care astfel pot fi mai uşor decelate de către receptorii limfocitari.

b) *Limfochine care acţionează prin intermediul macrofagului.* După cum arătam pe larg în cadrul secţiunii referitoare la răspunsul imun celular (punctul 1.3.4), unele limfochine îşi exercită acţiunea

Scanned with OKEN Scanner

specifică prin intermediul macrofagului. De pildă, factorul de activare a macrofagelor determină fagocitarea rapidă în citoplasma macrofagelor a bacililor tuberculoși la nivelul fagolizozomilor, factorul de armare a macrofagelor induce capacitatea de a liza celula tumorală, iar factorul de agregare a macrofagelor determină aglomerarea acestor celule în focarul de imunitate celulară, potențînd implicit prelucrarea unei cantități mai mari de antigen. Dar cea mai importantă limfochină care acționează prin intermediul macrofagului este, desigur, factorul de inhibiție a migrării macrofagelor care asigură rămînerea pentru un timp mai îndelungat în zonele cu antigen timodependent a macrofagelor, ceea ce duce la prelucrarea continuă și în ritm susținut a antigenului și reprezintă o etapă preliminară recunoașterii antigenului de către limfocitul T antigen-reactiv.

c) *Elaborarea de monochine.* Prin analogie cu limfochinele, monochinele, sînt substanțe imunoactive, secretate de către macrofag în prezența antigenului și limfocitului T efector. Dintre cele mai importante monochine, menționăm :

— *Factorul genetic macrofagic* este eliberat de macrofag în contact cu antigenul inductor de imunitate celulară. Conține în compoziția sa atît o porțiune din receptorul macrofagic, cît și un fragment de antigen. Contribuie la maturarea limfocitelor T ajutătoare în vederea amplificării răspunsului imun.

— *Factorul de activare a limfocitelor* are un efect mitogen puternic asupra timocitelor și un efect similar limitat asupra limfocitelor T „antigen-reactive" din sîngele periferic.

— *Factorul de activare a celulelor T* nu este un mitogen prin sine, dar potențează activitatea antigenului de stimulare a proliferării limfocitelor T antigen-reactive în momentele inițiale ale transformării blastice. Procesul are loc prin intermediul moleculelor ciclice de tipul guaninmonofosfatului ciclic (GMPc) din membrana limfocitară.

— *Factorul de potențare a limfocitelor* este asemănător factorului de activare a celulelor T, dar acționează prin alte mecanisme decît modificarea activității moleculelor ciclice, mecanisme încă insuficient clarificate.

— *Factorul de diferențiere a timocitelor* acționează similar timopoietinelor și timozinei alfa din complexul *HIM*, grăbind transformarea timocitelor în limfocite T imunocompetente.

Scanned with OKEN Scanner

— *Transferina* se adresează limfocitelor T stimulate de antigen, accelerînd procesul de transformare blastică. Acţionează ca şi factorul de activare a celulelor T, dar după ce antigenul a fost recunoscut de către limfocit.

— *Factorii de diferenţiere a limfocitelor B* care stimulează diferenţierea precursorilor de limfocite B în celule B mature. În speţă, aceşti factori favorizează exprimarea receptorilor imunoglobulinici pe suprafaţa limfocitelor B.

— *Factorul tisular* este o substanţă eliberată de macrofag sub acţiunea diferitelor antigene, cu acţiune procoagulantă în focar. Această acţiune are drept efect secundar menţinerea în focar a macrofagelor, limfocitelor T şi B, datorită cheagului de fibrină limitant.

d) *Realizarea unei punţi triunghiulare limfocit B—limfocit T—macrofag.* În imunitatea umorală, antigenul poate fi mai uşor recunoscut de către limfocitul B antigen-reactiv dacă acest antigen este fixat la nivelul purtătorului din molecula sa de către limfocitul T ajutător şi, respectiv, de către macrofag. În acest fel, se realizează o punte triunghiulară (fig. 17). Această punte se formează numai dacă între macrofag şi limfocitul Th există identitate la nivelul antigenelor HL—A.

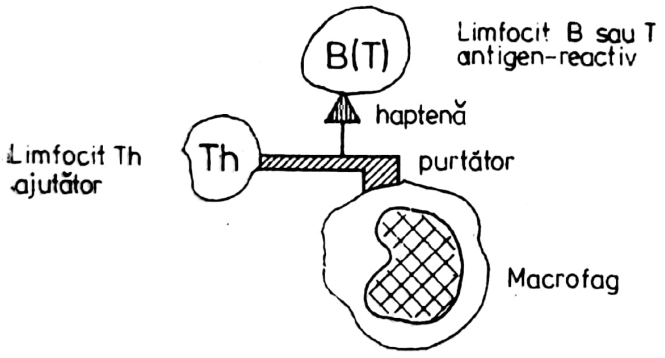


Fig. 17. — Realizarea punţii triunghiulare limfocit B(T) antigen-reactiv/limfocit Th/macrofag în cursul cooperării celulare pentru realizarea răspunsului imun.

1.3.5.2.2. Interacţiuni între macrofag şi granulocit

Macrofagele secretă un factor denumit *factorul stimulator al formării de colonii* care acţionează la nivelul măduvei osoase hematogene prin favorizarea proliferării precursorilor din linia granulocitară. Implicit, prin această acţiune, macrofagul intervine în realizarea în organism a unor eşantioane de granulocite neutrofile necesare ca primă barieră fagocitară în cazul invaziei microbiene.

Scanned with OKEN Scanner

1.3.5.2.3. Interacțiuni între diferitele populații și subpopulații limfocitare

Această problemă se rezumă de fapt la relațiile dintre limfocitele B sau T antigen-reactive, pe de o parte, și limfocitele imunomodulatoare, pe de altă parte. Această relație se realizează fie mecanic, fie prin elaborarea de factori solubili.

a) *Formarea de punți mecanice.* Limfocitul ajutător (Th) se leagă de purtătorul din molecula antigenică și astfel antigenul este oferit prin haptenă, mai concentrată, limfocitului antigen-reactiv B sau T.

b) *Elaborarea de factori solubili ajutători și supresori.* Limfocitele imunomodulatoare (Th și Ts) pot să secrete factori solubili care potențează sau inhibă realizarea răspunsului imun umoral sau celular. Factorii solubili cuprind două categorii, și anume : factori ajutători și, respectiv, supresori.

Cei din prima categorie se împart la rîndul lor în *specifici* (De ex : factorii IgT, Taussig, HF, factorul de asistare a activității ucigașe a celulelor K, factorul *Tada*) și nespecifici (de ex. factorul TRF (T-*replacing factor*) și AEF (*allogenic effect factor*).

Și factorii *supresori* pot fi *specifici* (factorii Tada supresori, factorul Kapp, factorul Benaceraff și Debré) și *nespecifici* [factorul SIRS (*soluble immune response suppressor*) și factorul IBF (*immunoglobulin-binding factor*)].

Limfocitele imunomodulatoare realizează un echilibru adaptativ al răspunsului imun umoral și celular în funcție de necesități. Dacă într-o anumită împrejurare organismul reclamă o accentuare a răspunsului imun atunci predomină limfocitele T ajutătoare. Dacă, dimpotrivă, răspunsul a devenit exagerat și virtual nociv pentru organism crește tonusul limfocitelor T supresoare. În cazul cînd acest echilibru fiziologic dintre cele două categorii de limfocite imunomodulatoare se rupe, apar aspecte de imunopatologie cum ar fi autoimunitatea sau unele forme de imunotoleranță (vezi punctele 1.3.6 și 1.3.9).

1.3.5.2.4. Rolul celulelor K și NC (NK)

Celulele K reprezintă o barieră imună importantă în realizarea apărării antitumorale, sau față de alte celule non-self. Merită subliniat că celulele K au nevoie pentru a acționa de un timp în care să se dezvolte imunitatea antitumorală umorală ; pentru că, așa cum arătam mai sus, celulele K acționează numai pe celule canceroase acoperite cu anticorpi specifici. Pe de altă parte, celulele natu-

ral-citotoxice sau natural-ucigaşe (NC/NK) acţionează mult mai precoce, reprezentînd o barieră iniţială de respingere a celulei tumorale încă înainte de dezvoltarea unui răspuns imun umoral specific antigenelor tumorii respective. Descoperirea rolului important al interferonului în stimularea activităţii NC şi NK deschide perspective mari prin potenţarea capacităţii organismului de apărare imună anticanceroasă (vezi punctul 2.4.4).

1.3.5.2.5. Rolul limfocitelor „nule"

Aşa cum arătam, limfocitele „nule" reprezintă atît precursori de limfocite B (stimulînd indirect imunitatea umorală), cît şi precursori

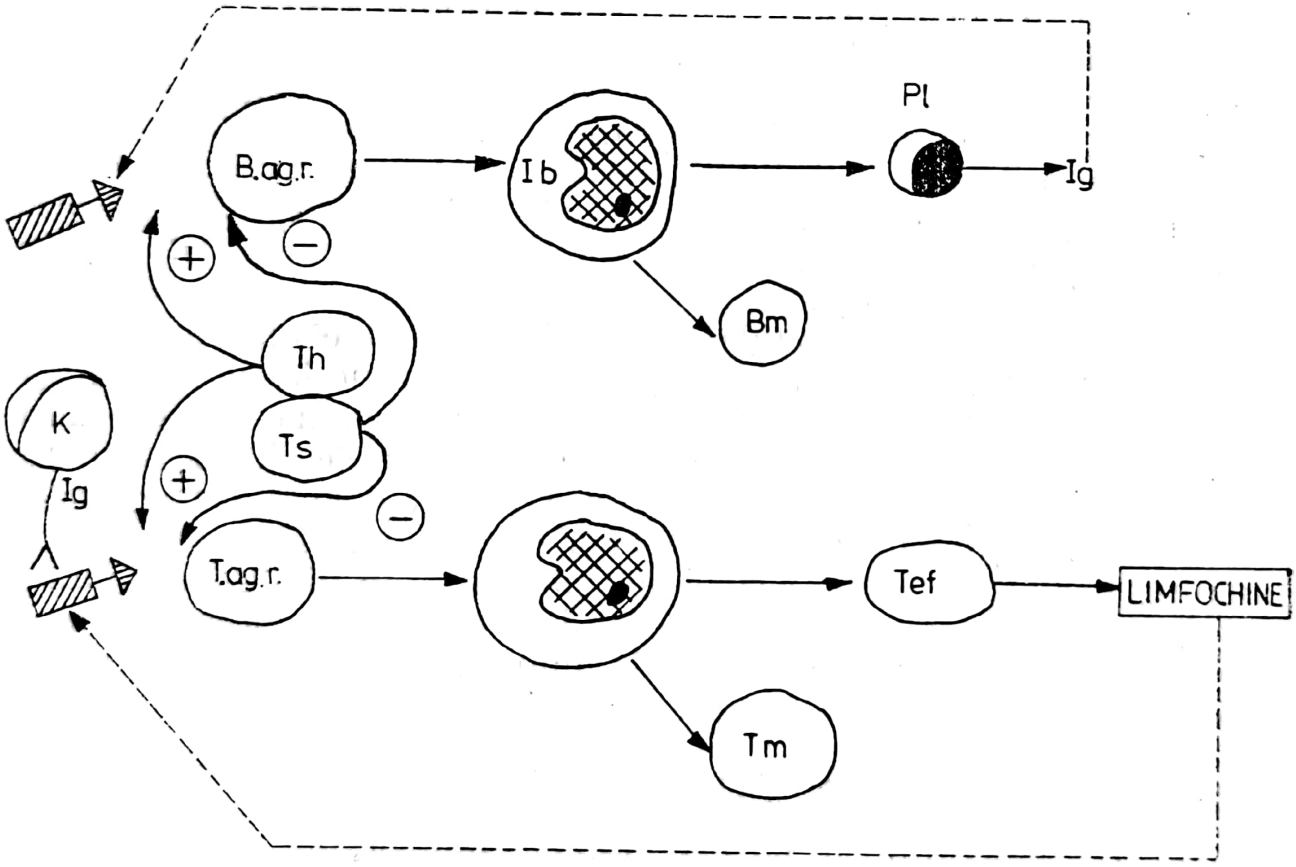


Fig. 18. — Prezentarea sintetică a principalelor evenimente celulare din cursul realizării imunităţii umorale şi celulare. *B.ag.r,* limfocit B antigen-reactiv; *T.ag.r.*, limfocit T antigen-reactiv; *Ib,* imunoblast; *Pl,* plasmocit; Ig, imunoglobuline (anticorpi); $\frac{Bm}{Tm}$ = limfocite cu memorie; *K* = celule *killer* (ucigaşe); *Th,* limfocite T ajutătoare (*helper*); *Ts,* limfocite supresoare.

de granulocite (influențînd favorabil, de asemenea indirect, fagocitoza microbiană). Nu este de neglijat nici intervenția limfocitelor „nule" ca factori cu acțiune inhibitoare în anumite sisteme antigen-limfocit, antigen-reactiv, prin cooperare cu limfocitele T supresoare.

În figura 18 se prezintă schematic cele mai importante evenimente celulare care au loc în răspunsul imun umoral și celular.

1.3.6. Imunotoleranța

Starea de imunotoleranță reprezintă un aspect particular al reactivității imune caracterizat prin tolerarea unor antigene self sau non-self. Cu alte cuvinte, este vorba de lipsa de răspuns imun umoral sau celular, orientată către un anume antigen.

1.3.6.1. Aspecte ale imunotoleranței

a) *Imunotoleranța fiziologică (autotoleranța).* Un individ cu imunoreactivitate normală tolerează antigenele self. Aceasta reprezintă o condiție esențială pentru păstrarea echilibrului biologic al organismului.

b) *Infecția naturală murină cu virusul coriomeningitei limfocitare.* La unele linii genetice de șoareci s-a observat apariția cu frecvență înaltă a unei infecții virale caracterizate prin corioretinită și meningită, la examenul histopatologic și prin stare generală nealterată, la examenul clinic. Animalele infectate prezintă un nivel de imunitate umorală și celulară sistemică foarte scăzut sau nul, paralel cu prezența unei concentrații înalte de virus infectant în umori și țesuturi.

c) *Imunotoleranța experimentală (indusă).* Dacă unui șoarece nou născut dintr-o anumită linie genetică (denumită convențional X) i se injectează limfocite aparținînd șoarecilor nou născuți, de altă linie genetică (denumită convențional Y) și ulterior i se aplică o grefă de piele Y, se observă că animalul tolerează această grefă, deci nu are loc fenomenul de respingere. Dacă animalul respectiv, ajuns la vîrsta adultă, este din nou grefat cu fragment de piele Y, grefa este de asemenea tolerată, ceea ce demonstrează că starea de

Scanned with OKEN Scanner

toleranţă s-a menţinut şi la adult. Dacă însă şoarecelui adult tolerant i se injectează limfocite X provenite de la un adult normal imunologic, are loc respingerea grefei Y. Cu această experienţă s-a dovedit capacitatea de „vindecare" a stării de imunotoleranţă la adăugarea de limfocite „adoptive" mature din punct de vedere imunologic.

d) *„Paralizia" imună.* Dacă un anume antigen este administrat în doze crescînde şi la intervale relativ mari unui acelaşi individ se produce un răspuns imun din ce în ce mai rapid şi mai prelungit în timp. Cînd însă numărul de administrări de antigen este foarte mare şi intervalele dintre inoculări devin mai mici, apare la un moment dat o scădere bruscă a nivelului răspunsului imun, ca şi cum capacitatea imunoreactivă a organismului a fost deodată depăşită de excesul de antigen.

1.3.6.2. Mecanismele imunotoleranţei

a) *Imunotoleranţa fiziologică (autotoleranţa).* Conform teoriei selecţiei clonale (vezi punctul 1.3.3.5), în timpul perioadei perinatale clonele de celule sau genele intracelulare corespondente antigenelor proprii (self), sînt inactivate. În acest fel bagajul potenţial imun corespunzător antigenelor proprii nu se mai maturează şi astfel în perioda adultă sistemul imun reacţionează numai faţă de antigenele străine şi nu faţă de cele proprii.

b) *Infecţia naturală murină cu virusul coriomeningitei limfocitare.* În această formă de imunotoleranţă se consideră că virusul are un tropism limfocitar marcat, ceea ce duce la modificarea receptorilor pentru antigen de pe suprafaţa limfocitului antigen-reactiv care nu mai recunoaşte antigenul viral non-self pătruns în organism.

c) *Imunotoleranţa experimentală (indusă).* În experienţele de transfer al toleranţei cu limfocite imature, inducţia tolerării alogrefelor se datoreşte prezenţei în organism a unei populaţii limfocitare areactive. Pe de altă parte, dacă animalului adult i se injectează limfocite imunocompetente aparţinînd aceleiaşi linii genetice, se recuperează capacitatea de răspuns imun, deci are loc respingerea alogrefei şi în acest fel starea de imunotoleranţă indusă este „ruptă".

Scanned with OKEN Scanner

d) *„Paralizia" imună.* Dacă se administrează cantităţi mari ale unui acelaşi antigen la intervale relativ mici de timp, prin cumul antigenul în exces acoperă receptorii limfocitari şi astfel, la intervenţia unui nou eşantion antigenic, acesta nu mai poate fi recunoscut şi nici nu se mai poate declanşa suita de procese necesare dezvoltării răspunsului imun umoral sau celular.

1.3.7. Imunosupresia. Agenţii imunosupresivi

Imunosupresia reprezintă o stare de deprimare profundă a răspunsului imun umoral sau celular provocată de o serie de agenţi numiţi *imunosupresivi.* Dintre cei mai importanţi agenţi imunosupresivi, notăm :

Agenţi fizici : radiaţii (în special radiaţiile gama şi radiaţiile X).

Agenţi chimici : dextran, ciclofosfamidă, ciclosporină A. Subliniem îndeosebi efectul imunosupresiv al dextranului, polimer glucidic folosit frecvent ca înlocuitor de sînge, ceea ce atrage atenţia medicului care aplică terapie intensivă asupra riscurilor prelungirii unui asemenea tratament pe un teren imunologic precar, aşa cum se prezintă lucrurile la cazurile care necesită administrarea de înlocuitori de sînge.

Agenţi biologici : hormonii corticosteroizi ; anticorpii specifici (prin mecanism de „conexiune inversă") ; complexele imune circulante ; serul antilimfocitar ; alfafetoproteina ; prostaglandinele ; unii produşi din peretele streptococilor de grup A ; unele virusuri (rujeolic, rubeolic, gripal, Coxsackie) etc. ; unele antibiotice (eritromicina, cloramfenicolul, colimicina etc.).

Mecanismele prin care acţionează agenţii imunosupresivi sînt multiple, ele implicînd mai multe sau mai puţine verigi din angrenajul complex care asigură realizarea reactivităţii imune umorale sau celulare.

1.3.8. Stările de imunodeficienţă

Imunodeficienţa reprezintă o stare de diminuare sau abolire a reactivităţii imune umorale, celulare sau umoral-celulare, survenită datorită unor carenţe naturale ale verigilor declanşării dezvoltării şi realizării finale a imunităţii.

Scanned with OKEN Scanner

1.3.8.1. Clasificare

Imunodeficienţele pot fi primare (înnăscute) sau secundare (dobîndite).

1.3.8.1.1. Imunodeficienţe primare

a) *Pe linia imunităţii umorale.* În acest grup se includ hipo- şi agamaglobulinemiile. Ele sînt afecţiuni congenitale datorate unui deficit funcţional al sistemului limfocitar bursodependent. Dintre cele mai importante afecţiuni ale acestui grup, notăm :

— *Agamaglobulinemia legată de cromozomul X.* Se manifestă numai la băieţi şi se datoreşte unei gene patologice purtată de genomul heterozigot al mamei care se actualizează la fătul mascul. Din punct de vedere clinic şi imunobiologic, imunitatea celulară este păstrată (are loc respingerea heterografelor şi se pozitivează reacţiile de hipersensibilitate întîrziată de tip tuberculinic), iar imunitatea prin anticorpi este abolită. Bolnavii manifestă o rezistenţă foarte scăzută la infecţiile bacteriene şi o relativă toleranţă la agresiunea virală. Boala se mai poate însoţi de modificări articulare, dermatomiozită, pareze de neuron motor periferic şi anemie hemolitică.

— *Deficienţa în imunoglobuline IgA secretoare.* Indivizii respectivi prezintă o apărare specifică locală prin anticorpi deficitară la nivelul pielii şi mucoaselor.

— *Deficienţa în imunoglobuline IgG şi IgA sistemice, asociată cu creşterea titrului plasmatic de IgM.*

— *Deficienţa lanţurilor imunoglobulinice kappa.*

b) *Pe linia imunităţii celulare.* În această categorie se include mai ales *sindromul Di George* (aplazie timică congenitală). Copiii se nasc fără timus şi implicit nu vor avea bagajul celular al sistemului timodependent. Din punct de vedere clinic şi imunobiologic, boala se caracterizează prin imunitate celulară abolită (tolerarea heterografelor, lipsa reacţiilor de hipersensibilitate întîrziată de tip tuberculinic), paralel cu diminuarea într-o măsură mai mare sau mai mică a răspunsului imun umoral. Afecţiunea evoluează cu infecţii virale intercurente foarte grave şi uneori cu hipoparatiroidism.

Scanned with OKEN Scanner

c) *Pe linie mixtă (umorală și celulară).* Din acest tip de imunodeficiențe, citățm :

— *Sindromul Wiskott-Aldrich.* Este o boală congenitală cu imunitatea umorală și celulară diminuate și cu alte manifestări (exeme, trombocitopenie). Bolnavii contractează frecvente infecții intercurente.

— *Imunodeficiența tip Swiss.* Se transmite printr-o genă recesivă autosomală și se manifestă prin diminuarea reactivității imune umorale și celulare, paralel cu alte semne (diaree cronică, leucopenie). Bolnavii sînt foarte susceptibili la infecții, îndeosebi la cele cu virusuri.

— *Disgenezia reticulară*

— *Deficiență enzimatică (în purinnucleozidfosforilază)*

— *Ataxia-teleangiectazia congenitală.* Copilul se naște cu hipoplazie sau displazie timică (ceea ce grevează asupra răspunsului imun celular), precum și cu o deficiență marcată în sinteza imunoglobulinelor IgA secretoare (ceea ce se traduce printr-o apărare specifică precară la nivelul pielii și mucoaselor).

1.3.8.1.2. Imunodeficiențe secundare

Sînt stări de diminuare a imunității apărute în cursul unei afecțiuni care determină scăderea rezistenței organismului. Aceste stări pot fi de durate și de intensități diferite, în funcție de afecțiunea de bază și de momentul din evoluția acestei afecțiuni. Dintre bolile care determină constant imunodeficiență secundară notăm : diversele tumori „solide" ; leucozele ; boala Hodgkin ; lupusul eritematos diseminat ; infecțiile cronice (tuberculoza, sifilisul, bruceloza, malaria, leishmanioza) ; scleroza în plăci ; poliartrita cronică evolutivă ; alte colagenoze.

1.3.8.2. **Tratamentul imunodeficiențelor**

Astăzi se acordă un credit deosebit extractelor de timus în terapia salutară a unor imunodeficiențe. Un astfel de extract, denumit *timozina alfa*, acționează imunostimulator prin mai multe mecanisme și anume : maturarea precursorilor de limfocite T ; activarea moleculelor ciclice (AMPc și GMPc) în limfocitul B sau T antigen-reactiv ; stimularea secreției de limfochine de către limfocitul T efector ; substituirea purtătorului în molecula de imunogen.

Scanned with OKEN Scanner

1.3.9. Autoimunitatea

Autoimunitatea reprezintă o stare patologică a sistemului imun caracterizată prin capacitatea organismului de a recunoaşte antigenele self şi de a se diferenţia pentru răspuns imun faţă de aceste antigene.

1.3.9.1. Clasificarea bolilor autoimune

Bolile autoimune se împart, din punctul de vedere al intensităţii conflictului autoimun în organism, în trei categorii :

a) *Bolile autoimune cu specificitate de organ* sînt afecţiuni în care conflictul autoimun pe linie umorală sau celulară este orientat strict către un anume teritoriu din organism. Exemplu : tiroidita autoimună Hashimoto.

b) *Bolile autoimune cu predominanţă în anumite zone ale organismului* includ afecţiunile autoimune în care intensitatea conflictului imun este maximă în anumite teritorii, dar în care coexistă fenomene autoimune de intensitate mai mică şi în alte ţesuturi sau organe. Exemple : hepatita cronică activă ; rectocolita hemoragică ; panencefalita sclerozantă subacută demielinizată.

c) *Bolile autoimune fără specificitate de organ (difuze)* reprezintă cele mai grave boli de autoagresiune, caracterizate printr-un proces autoimun intens nediferenţiat ca intensitate, în funcţie de diverse teritorii ale organismului. Exemplu : lupusul eritematos diseminat.

1.3.9.2. Mecanismele autoimunităţii

Există trei mecanisme principale prin care se poate realiza cercul de autoîntreţinere al unei boli autoimune. Aceste 3 mecanisme pot fi sintetizate astfel :

a) *Modificarea antigenului self spre non-self* se referă la intervenţia unui factor de natură infecţioasă sau de altă natură care modi-

Scanned with OKEN Scanner

fică molecula antigenului (fie la nivelul haptenei, fie la nivelul purtătorului) şi are drept consecinţă recunoaşterea unui antigen modificat de către un limfocit normal.

b) *Modificarea situsului limfocitar de recunoaştere.* În acest mecanism antigenul self este nemodificat, în schimb receptorii limfocitari sînt alteraţi şi astfel ei recunosc în mod patologic un antigen self normal.

c) *Tulburarea echilibrului limfocitelor T imunomodulatoare* Este un mecanism mai recent implicat în autoimunitate şi se referă la eventualitatea în care chiar în prezenţa unui antigen self normal şi a unui limfocit antigen-reactiv de asemenea normal are loc procesul patologic de recunoaştere datorită predominanţei anormale a limfocitelor T ajutătoare faţă de limfocitele T supresoare. Astfel, prin diminuarea rolului frenator, fiziologic şi adaptativ al limfocitelor supresoare, se poate dezvolta o boală autoimună.

1.3.9.3. Testarea proceselor autoimune

1.3.9.3.1. Teste de autoimunitate pe linie umorală

a) *Determinarea prezenţei de autoanticorpi.* S-au descris numeroase categorii de autoanticorpi în funcţie de antigenul tisular sau substratele celulare folosite ca antigen test. Astăzi se studiază pe scară largă următoarele categorii de autoanticorpi : antinucleari, antimitocondriali, anti-muşchi neted, anti-ADN (nativ sau depolimerizat). Cele mai folosite teste pentru determinarea autoanticorpilor serici sînt imunofluorescenţa şi spectrofotometria.

b) *Decelarea complexelor imune circulante.* Aceasta se impune în cazul asocierii unei boli autoimune cu o stare de hipersensibilitate imediată de tip III (vezi punctul 1.3.10).

1.3.9.3.2. Testarea autoimunităţii pe linie celulară

a) Determinarea proporţiei de limfocite *T totale* (rozete E de mică afinitate), de limfocite *B totale* (determinarea receptorilor Ig limfocitari prin imunofluorescenţă în prezenţa serului marcat anti-

Scanned with OKEN Scanner

om), determinarea proporţiei de limfocite *T ajutătoare* (rozete E de mare afinitate, rozete EAM, determinarea markerului Ly_1), determinarea proporţiei de limfocite *T supresoare* (rozete EAG, determinarea markerului $Ly_{2,3}$).

b) *Testarea imunităţii celulare faţă de antigene self.* În acest scop se folosesc testele uzuale (inhibiţia migrării macrofagelor, sau transformarea blastică specifică a limfocitelor T).

1.3.9.4. Importanţa practică a autoimunităţii

Bolile de autoagresiune acoperă o mare parte din patologia umană actuală. Tot în această categorie sînt incluse din ce în ce mai multe afecţiuni considerate pînă nu demult cu etiopatogenie obscură. În afară de bolile autoimune cunoscute (lupusul eritematos diseminat, hepatita cronică activă, tiroidita autoimună, rectocolita hemoragică etc.), se impun atenţiei unele afecţiuni care pot recunoaşte un lanţ patogenic complex, în cadrul căruia există unele componente autoimune, ca de exemplu : miocarditele autoimune, artrita reumatoidă, glomerulonefrita poststreptococică, scleroza în plăci etc. Tot în această categorie am putea include şi fenomenele de autoagresiune care se pot instala, atît imediat după stress-ul anestezico-chirurgical, cît şi ulterior, postoperator, prin declanşarea unor fenomene secundare autoimune.

1.3.10. Stările de hipersensibilitate

Hipersensibilitatea, cunoscută şi sub numele clasic de „alergie" reprezintă o stare particulară a sistemului imun în care răspunsul specific este exagerat ca intensitate şi uneori chiar ca durată. Agentul, respectiv antigenul, capabil să declanşeze o reacţie de hipersensibilitate, se mai numeşte *alergen*.

Categorii de hipersensibilitate imună au fost denumite convenţional următoarele forme de hipersensibilitate :

— hipersensibilitatea imediată de tip I (atopică sau anafilactică) ;

— hipersensibilitatea imediată tip II (citotoxică, dependentă de complement) ;

— hipersensibilitatea imediată de tip III (prin complexe imune circulante);

— hipersensibilitatea întîrziată (tip IV).

1.3.10.1. Hipersensibilitatea imediată tip I (atopică sau anafilactică)

a) *Date experimentale.* Aici trebuie să menționăm:

Șocul anafilactic. Dacă unui cobai i se injectează intraperitoneal sau subcutanat o proteină străină (de pildă, o albumină), nu se observă la o primă injecție nici un fenomen clinic aparent. La o a doua administrare a aceluiași agent sensibilizant, însă, animalul prezintă un cortegiu de fenomene dramatice cunoscute generic sub numele de „șoc anafilactic". Din punct de vedere clinic se notează: asfixie, convulsii și exitus cu insuficiență respiratoare acută. Necroptic, apare constricția generalizată a musculaturii netede, în special la nivelul bronhiolelor și uterului, paralel cu o capilarodilatație generalizată.

Fenomenul Schultz-Dale și serosensibilizarea. Dacă se extrage uterul unui cobai femel care a fost în prealabil sensibilizat cu alergenul denumit convențional X și este pus într-un vas cu o soluție fiziologică, nu se observă nici o modificare de formă a organului *in situ.* Administrînd, însă, în soluția fiziologică nutritivă, același antigen sensibilizant (X), se notează, pe de o parte, contracția vizibilă a uterului, iar pe de altă parte creșterea concentrației de histamină în soluția respectivă. Dacă în afară de antigenul X se injectează în soluția fiziologică nutritivă și anticorpi anti-X de la același animal, contracția organului *in situ* este mai puternică, ceea ce demonstrează indirect rolul anticorpilor în potențarea fenomenelor de hipersensibilitate imediată tip I.

Administrarea de histamină in vivo. Dacă unui animal (cobai, șoarece, șobolan) i se administrează parenteral histamină, de regulă apar fenomene clinice și histopatologice similare celor din șocul anafilactic.

b) *Mecanisme de producere.* Datele experimentale expuse mai sus, precum și informații moderne de imunochimie și imunocito-

logie, au permis descifrarea mecanismelor de producere a stărilor de hipersensibilitate atopică sau anafilactică (fig. 19). La un prim contact cu un antigen sensibilizant, denumit convenţional X, în orga-

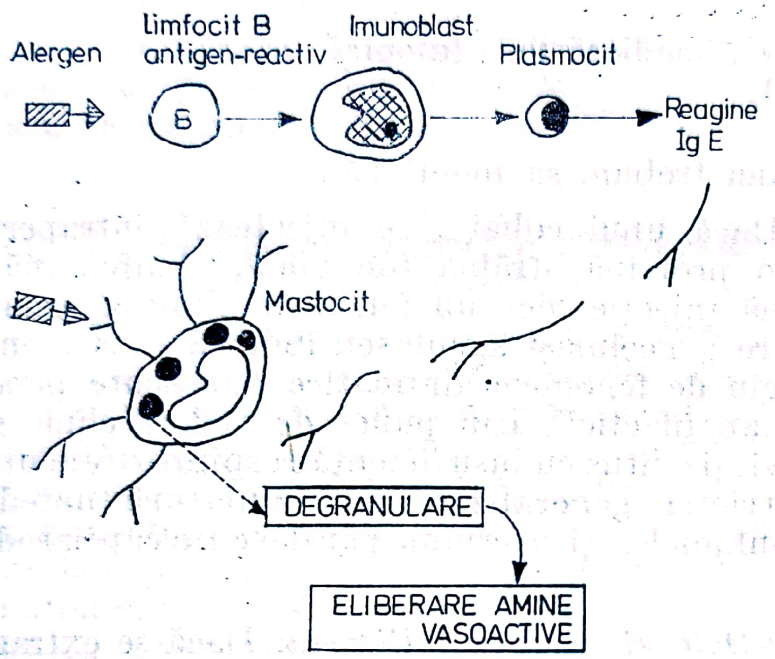


Fig. 19. — Mecanismul de producere a stărilor de de hipersensibilitate imediată de tip I (atopică sau anafilactică).

nismul individului se vor dezvolta prin diferenţierea sistemului limfocitar bursodependent, anticorpi specifici anti-X. Aceşti anticorpi care aparţin clasei imunoglobulinice IgE, se mai numesc şi *reagine*. Ei sînt formaţi din molecule bivalente care conţin 2 fragmente Fab şi un fragment Fc. Reaginele anti-X se vor ataşa prin fragmentele Fc pe suprafaţa unor celule din ţesutul conjunctiv numite *mastocite*. Toate aceste procese evoluează fără nici o manifestare clinică. Dacă individul respectiv vine ulterior în contact cu acelaşi alergen (X), respectivul alergen se va cupla prin intermediul grupărilor sale determinante cu fragmentele Fab din molecula reaginelor IgE deja ataşate pe suprafaţa mastocitului. Formarea complexului alergen X—anticorpi IgE anti-X—mastocit are drept consecinţă declanşarea procesului de *degranulare mastocitară*: granulele din citoplasma mastocitului eliberează cantităţi mari de amine vasoactive care mai departe se răspîndesc în organism determinînd efecte de tip histaminic (contracţia puternică a musculaturii netede din arborele respirator, tubul digestiv şi din sfera genitală, paralel cu dilataţia capilarelor în toate teritoriile organismului).

c) *Aspecte clinice.* Există un mare polimorfism clinic al stărilor de alergie anafilactică. Dintre acestea menționăm :

— fenomene cutanate după o înțepătură de insecte ;

— reacții de intoleranță la antibiotice, în special la penicilină, care pot lua alură gravă de tipul șocului anafilactic ;

— alergiile cutanate sau dermatitele alergice care pot apărea prin hipersensibilizarea pielii la coloranți în industria chimică, la medicația locală externă sau la detergenți ;

— alergiile respiratoare : în acest caz alergenele pot fi reprezentate de foarte mulți factori (polen, fîn, păr de animale, particule de praf), iar manifestările sînt de rinită alergică, edem Quincke, dispnee ;

— alergiile digestive : și în acest caz alergenele sînt foarte diverse (zmeură, căpșuni, frișcă, carne de pește, icre etc.), iar manifestările sînt de urticarie și uneori de edem Quincke.

d) *Testarea hipersensibilității imediate tip I* se face prin :

Testul Prausnitz-Küstner. Serul individului sensibilizat (care conține reagine IgE) sensibilizează pasiv pielea unui individ sănătos (om sau maimuță).

Testul de anafilaxie pasivă. Dacă se injectează intradermic la un animal ser uman suspect și apoi se administrează antigenul sensibilizant cuplat cu un colorant, pe cale intravenoasă, se poate remarca o reacție inflamatorie locală asociată cu prezența antigenului în zona cutanată (atestată prin colorarea acestei zone) (test pozitiv).

Dozarea imunoglobulinelor IgE serice prin imunodifuzie radială în prezența unui ser imun standard anti-IgE.

1.3.10.2. Hipersensibilitatea imediată tip II (citotoxică, dependentă de complement)

a) *Date experimentale.* Se cunoaște de multă vreme faptul că administrarea de sînge de altă specie sau de alt grup sanguin în cadrul aceleiași specii animale este urmată de o suită de fenomene clinice grave (pentru detalii, vezi secțiunea 2, capitolul 2.2). În aceeași categorie de manifestări intră și reacțiile care apar după

Scanned with OKEN Scanner

administrarea unor celule străine de alotip diferit de al receptorului.

b) *Mecanisme de producere.* În acest caz apare un conflict imun între celula-antigen străină şi anticorpii specifici sensibilizanţi. În cazul apariţiei unui asemenea conflict există două posibilităţi de realizare a lizei celulei-antigen şi anume:

— *posibilitatea 1*: pe celula-antigen acoperită cu anticorpi sensibilizanţi specifici se ataşează o celulă K (ucigaşă), care produce liza celulei-antigen;

— *posibilitatea 2*: pe celula antigen acoperită cu anticorpi specifici sensibilizanţi se ataşează în mod eşalonat fracţiunile sistemului complementului în următoarea ordine: C1, C4, C2, C3, apoi celelalte fracţiuni (C5, C6, C7, C8, C9), rezultatul final fiind tot liza celulei antigen.

c) *Aspectele clinice* includ:

— Incompatibilitatea de grup sanguin. Aşa cum se va arăta în detaliu în cadrul capitolului 2.2, hipersensibilitatea tip II este responsabilă de reacţiile de incompatibilitate care apar între eritrocitele donatorului şi anticorpii din serul receptorului, atît în sistemul ABO, cît şi în sistemul Rh sau alte sisteme.

— Unele reacţii de respingere a heterografelor pot recunoaşte ca mecanism secundar o reacţie de hipersensibilitate imediată tip II (vezi punctul 2.3.1.3.1).

— Bolile autoimune cu specificitate de organ (tiroidita Hashimoto) îşi realizează veriga finală a autoimunităţii prin autoanticorpi sensibilizanţi care produc liza celulei-antigen modificată spre non-self prin intermediul sistemului complementului.

— Anemii hemolitice toxice cu componentă autoimună (la clorpromazină).

— Agranulocitoze toxice autoimune după medicamente (exemple: piramidon, chinidină, fenacetină) (pentru detalii, vezi punctul 2.1.1).

— Trombocitopenii toxice autoimune după tranchilizante.

d) *Testarea hipersensibilităţii imediate tip II.*

Cea mai uzuală metodă este dozarea concentraţiei de complement seric, în special a fracţiunii C3 prin imunodifuzie radială.

Scanned with OKEN Scanner

1.3.10.3. Hipersensibilitatea imediată tip III (prin complexe imune circulante)

a) *Date experimentale.* Aici trebuie să menționăm :

— Fenomenul Arthus : dacă unui iepure hiperimunizat cu un antigen sensibilizant, denumit convențional X, i se injectează ulterior intradermic același alergen, apare o reacție locală cutanată cu următoarele caracteristici : instalare precoce (după 3—8 ore de la injecție) ; aspect clinic de eritem, papulă sau edem ; aspect histologic de infiltrat bogat în granulocite ;

— boala serului experimentală ;

— glomerulonefrite experimentale după administrare de proteine heterologe ;

— arterita necrozantă a iepurelui consecutivă administrării de ser heterolog.

b) *Mecanisme de producere.* Hipersensibilitatea imediată tip III este datorată cuplării alergenului pătruns în organism cu anticorpii specifici și cu unele fracțiuni de complement, cu formarea așa-numitelor *complexe imune circulante* (CIC). Un asemenea complex imun va fi, deci, constituit din antigen (alergen) ; anticorpul specific sensibilizant (IgM sau IgG) ; subfracțiunile de complement C_{1q}, C_{3b} și C_{3d}, CIC eliberate în circulație se atașează la nivelul diferitelor structuri, în special la nivelul endoteliului capilar. Acest impact are drept consecință trei fenomene :

— aglutinarea trombocitară intravasculară ;

— atracția granulocitelor neutrofile, bazofile și eozinofile ;

— eliberarea de amine vasoactive, proces care are ca efect secundar constricția musculaturii netede și capilarodilatație (vezi punctul 1.3.10.1)

c) *Aspectele clinice* sînt polimorfe :

— *Boala serului* este un sindrom cunoscut de multă vreme și care apare după administrarea de ser antitoxic (antidifteric, antitetanic, antigangrenos), aparținînd unei alte specii decît celei umane. Manifestările acestui sindrom sînt foarte variate : febră, eritem localizat sau generalizat, adenopatie, inflamația articulațiilor etc.

Boala serului poate fi prevenită, după cum se știe, prin tehnica clasică de desensibilizare (metoda Besredka), care constă în admi-

Scanned with OKEN Scanner

nistrarea în doze crescînde, la intervale relativ mici, a serului; înainte de aplicarea cantității mari, reclamate de boala respectivă.

— *Sindromul „plămînului de fermier"* înregistrează la muncitorii agricoli care fac o alergie respiratoare cu rinită și fenomene de insuficiență respiratoare după sensibilizare la particulele de fîn putrezit.

— *Boala columbofililor* este tot o alergie a căilor respiratorii declanșată de alergene constituite din fragmente de fecale uscate ale păsărilor de colivie, aspirate accidental sub formă de aerosoli.

— *Periarterita nodoasă* este o boală destul de frecventă la om și care are drept verigă patogenică o asemenea stare de hipersensibilitate prin CIC.

— Unele forme de *lupus eritematos diseminat* recunosc în complexul patogenic intervenția hipersensibilității imediate tip III.

— *Poliartrita reumatoidă, îndeosebi poliartrita cronică evolutivă (PCE)* își datorează manifestările clinice în puseele acute apariției în circulație și fixării pe sinoviala articulară a CIC.

— *Glomerulonefritele acute difuze*, în special poststreptococice, în unele stadii, reprezintă consecința fixării complexelor imune circulante pe epiteliul glomerulilor renali.

— Unele stadii ale *cirozei biliare* sînt însoțite de fenomene de hipersensibilitate imediată tip III.

d) *Testarea hipersensibilității imediate tip III* se face prin determinarea consumului de complement și respectiv a complexelor imune circulante.

Determinarea consumului de complement. În vederea determinării scăderii concentrației de complement seric se folosesc mai multe metode și anume:

— *Imunodifuzia radială* care se bazează pe includerea în gel a unui ser imun standard anti-C_3 și pe introducerea în godeu a serului de testat. Diminuarea sau dispariția diametrului de precipitare în jurul godeului indică un test pozitiv (consum de C_3).

— *Testul* CH_{50}. Se folosesc: eritrocite de oaie acoperite cu anticorpi specifici și serul de testat. În condiții normale, adăugarea de ser de testat proaspăt la complexul de eritrocite—anticorpi anti-eritrocitari este urmat de hemoliză în proporție de 50%. Dacă complementul seric se găsește în concentrație scăzută (test pozitiv), hemoliza are loc în proporție mai mică (0—25%).

Scanned with OKEN Scanner

— *Testul legării subfracțiunii de complement* C_{1q}. În reacție intră serul de testat și subfracțiunea C_{1q} standard marcată radioactiv. Se introduce în sistem și polietilen-glicol ca agent precipitant, se centrifughează și se măsoară nivelul radioactivității în sedimentul obținut după centrifugare. Acest sediment conține complexele imune circulante + C_{1q}. Cu cît nivelul radioactivității are valori mai înalte, cu atît pozitivitatea testului este mai semnificativă.

Determinarea prezenței complexelor imune circulante (CIC) se face prin :

— Precipitarea cu polietilen-glicol a CIC din serul de testat, cu determinarea densității la spectrofotometru într-o anumită lungime de undă.

— *Teste care folosesc celule indicatoare purtătoare de receptori.* În atare tehnici se folosesc celule-test indicatoare, de regulă tumorale (exemple : linia Rajii, linia LI 1210), care poartă pe suprafața lor receptori pentru fragmentul Fc imunoglobulinic, și receptori pentru componenta C_3 a complementului. Cum CIC conțin atît imunoglobuline cu fragmente Fc, cît și subfracțiunea C_3 a complementului, aceste celule, în contact cu serul de bolnav bogat în CIC, vor fixa complexele imune circulante. Această fixare se vizualizează prin adăugarea în sistem de ser standard anti-IgG marcat cu iod radioactiv și măsurarea ulterioară a radioactivității la suprafața celulelor indicatoare. Un nivel radioactiv înalt va reflecta prezența CIC în serul de bolnav și, implicit, un test pozitiv.

— *Determinarea crioglobulinelor serice.* Crioglobulinele sînt proteine serice care formează gel la temperaturi scăzute (4°C). De regulă, crioglobulinele conțin unii autoanticorpi, dar mai ales complexele imune circulante. Un test pozitiv pentru crioglobuline reprezintă un indicator indirect pentru prezența CIC în serul de bolnav. Această interpretare, însă trebuie în mod obligatoriu coroborată cu celelalte teste menționate mai sus, care evidențiază în mod direct prezența CIC.

1.3.10.4. Hipersensibilitatea întîrziată (tip IV)

Hipersensibilitatea întîrziată este o noțiune care se suprapune aproape perfect pe noțiunea de imunitate celulară. Este vorba de reactivitate imunocelulară în care răspunsul apare exagerat. Spre

Scanned with OKEN Scanner

deosebire de formele de hipersensibilitate imediată (tip I, tip II, tip III), care de regulă reprezintă fenomene imunopatologice, dăunătoare organismului, hipersensibilitatea întîrziată este o formă salutară de alergie.

a) *Date experimentale.* Se cunoaşte de multă vreme reacţia locală de tip tuberculinic în infecţia experimentală a animalului (cobai) cu bacil tuberculos. Această reacţie se realizează după injectarea secundară intradermică de tuberculină (antigen purificat proteic extras din bacilul Koch). În cazul prezenţei hipersensibilităţii întîrziate antituberculoase apare reacţia pozitivă, caracterizată prin : instalare tardivă (după 24—48 ore de la injectarea antigenului); aspect clinic de eritem şi papulă (foarte rar asociate cu edem); aspect histopatologic de infiltrat cu macrofage şi limfocite T.

b) *Agenţi inductori.* Există foarte mulţi agenţi care pot declanşa reacţii în hipersensibilitate întîrziată. Dintre aceştia menţionăm :

— *agenţi chimici* : dinitroclorbenzenul, unele glucide, parafenilendiamina etc. ;

— *agenţi infecţioşi* : bacterieni (bacilul tuberculos, Brucella, agentul sifilisului, Listeria); virusuri (rujeolic, herpetic, rubeolic, vaccinia, gripal etc.), fungi (Candida albicans), paraziţi (Plasmodium, Leishmania, Taenia echinococcus) ;

— celule non-self (hetero- sau alografe, tumori).

c) *Factorii potenţatori* includ :

— *Imunoadjuvanţi* (BCG, lipopolizaharidul enterobacterian, Corynebacterium parvum) ;

— modificarea antigenului inductor;

— modul de administrare a antigenului.

d) *Factori inhibitori*

Hipersensibilitatea întîrziată poate fi inhibată fie de anticorpi (aşa-numiţii anticorpi „contrasensibilizanţi",) fie de complexele imune circulante.

e) *Mecanisme de producere.* Hipersensibilitatea întîrziată se produce printr-o suită de modificări ale limfocitelor T descrise în cadrul capitolului 1.2.4. referitor la răspunsul imun celular.

Cele mai importante limfochine care intervin în fenomenele de hipersensibilitate întîrziată sînt : factorul inhibitor al migrării macro-

Scanned with OKEN Scanner

fagelor, factorul de activare a macrofagelor, factorul de armare a macrofagelor, limfotoxina, factorul mitogen și factorii chimiotactici. În producerea fenomenelor de hipersensibilitate întîrziată intervine în sens stimulator și interferonul tip II (denumit și „imuninterferon").

f) *Aspecte clinice.* Hipersensibilitatea întîrziată se poate întîlni ca fenomen predominant sau asociat în numeroase situații. Dintre acestea notăm :

— infecții bacteriene sau parazitare cronice (tuberculoză, sifilis, bruceloză, malarie, leishmanioză) ;

— fenomene de respingere a grefelor ;

— cancer ;

— unele boli autoimune : lupusul eritematos diseminat, boala Hodgkin, poliartrita cronică evolutivă (unde se asociază frecvent fenomene de hipersensibilitate imediată tip III cu fenomene de hipersensibilitate întîrziată).

g) *Testarea hipersensibilității întîrziate* se poate realiza prin tehnici *in vivo* (reacții de tip tuberculinic) sau *in vitro* (transformarea blastică a limfocitelor T, inhibiția migrării macrofagelor), teste care au fost descrise în detaliu la punctul 1.3.4.3.

1.3.11. Manipularea răspunsului imun

Pe măsura acumulării datelor privind factorii care inhibă sau stimulează imunoreactivitatea, s-a conturat tot mai clar posibilitatea folosirii mijloacelor imunologice în mod deliberat, ca armă terapeutică, într-un sens sau altul, în funcție de natura și gradul unei imunopatii. Dacă noțiunile de „imunosupresive" sau de „imunoadjuvanți" cuprindeau o arie mai largă, definind rolul frenator sau activator al unor agenți în diferite contexte fiziologice sau patologice ale imunității, se tinde astăzi spre utilizarea noțiunii de *imunomodulatori*, în care se includ numai agenții imunosupresivi sau imunoadjuvanți cu aplicabilitate practică. Actul de aplicare a imunomodulatorilor în clinică sau experimental, în mod diferențiat, după scopul urmărit (inhibare sau stimulare), ca și în funcție de particularitățile agentului imunomodulator și ale organismului receptor, poartă numele de

Scanned with OKEN Scanner

imunomanipulare. Imunomanipulării i se acordă un credit major în perspectiva imediată şi mai îndepărtată, ea reprezentînd totodată un argument privind serviciile pe care imunologia le poate aduce clinicii umane, nu numai prin lărgirea evantaiului de investigaţii cu valoare diagnostică şi prognostică, ci şi direct în stabilirea unei conduite terapeutice adecvate.

1.3.11.1. Imunomanipularea prin agenţi imunosupresivi în boli autoimune sau stări de hipersensibilitate imediată

1.3.11.1.1. Principii generale privind aplicarea terapiei imunosupresive

Studiile experimentale pe animal au demonstrat diferenţe considerabile între diferite specii şi alotipuri în ceea ce priveşte metabolizarea, toxicitatea şi efectele biologice ale unor agenţi imunosupresivi. De aceea, concluziile trase din modelele pe animal trebuie extrapolate, cu foarte mare prudenţă la om. Există însă anumite aspecte comune în problemă, ca, de pildă, faptul că, indiferent de specie, se poate stabili o anumită relaţie între gradul de metabolizare a agentului imunosupresiv şi suprafaţa totală a corpului. Astfel, s-a ajuns la o informaţie utilă şi anume că o doză în mg/kg corp pentru şoarece trebuie împărţită la 12 (sau la o valoare apropiată acesteia) pentru a afla doza comparabilă necesară unui om adult. În cazul şobolanului, factorul la care se împarte doza este 6.

În ceea ce priveşte *schema de administrare*, trebuie avuţi în vedere mai mulţi parametri şi anume : frecvenţa administrărilor, doza pentru fiecare administrare, relaţia între timpul de administrare a imunosupresivului şi timpul de expunere la antigen. În legătură cu ultimul parametru menţionat, notăm că agenţii imunosupresivi care recunosc drept mecanism principal frenarea proliferării celulare prezintă un efect inhibitor slab asupra răspunsului imun, în cazul administrării lor înainte de intervenţia antigenului. Acelaşi agent, administrat după un anume timp de la stimularea antigenică, deci în cursul procesului de proliferare caracteristic transformării blastice limfocitare specifice, poate diminua profund răspunsul imun. Pe de altă parte, agenţii imunosupresivi care acţionează de regulă în stadiile precedente proliferării celulare (ca, de pildă, corticoste-

Scanned with OKEN Scanner

roizii sau serul antilimfocitar) determină efecte inhibitorii ale imunității dacă sînt administrate înainte sau concomitent cu antigenul și manifestă acțiune supresivă slabă dacă sînt administrate după o perioadă de la contactul cu antigenul. În legătură cu doza și frecvența administrărilor, s-a remarcat că unele imunosupresive (ca, de exemplu, majoritatea antimetaboliților) își exercită efectele citolitice mai bine în cazul administrărilor repetate și în doze mici, pe cînd altele — ca iradierea sau agenții alchilanți — sînt mai eficiente prin aplicări în doze mari, distanțate în timp. Relația între toxicitate, pe de o parte, și eficiența imunosupresiei, pe de alta, depinde de gradul diferit de susceptibilitate a subiectului și de capacitatea de regenerare a diferitelor țesuturi sau populații celulare luate în considerație. Această relație este deseori greu de stabilit cu precizie. Cu atît mai mult, se impune adoptarea unei scheme corecte de administrare a unui imunosupresiv, în funcție de boală, stadiul acesteia și particularitățile individuale ale subiectului.

1.3.11.1.2. Imunomodulatori imunosupresivi cu aplicare uzuală în clinică

a) *Radiațiile ionizante.* Radiațiile X sau gama eliberează electroni din atomii structurilor țintă. Un electron astfel eliberat poate prezenta suficientă energie pentru a ioniza, la rîndul său, alți atomi. Aceste ionizări în lanț produc în organism formarea de radicali liberi (de tipul radicalului HO^- din apă) care sînt puternic reactivi față de macromoleculele celulare. Efectele cele mai însemnate se exercită asupra ADN, cu compromiterea consecutivă a procesului de diviziune și, implicit, proliferare. De aceea, țesuturile cu capacitate mare de multiplicare — în care se includ și formațiile limfoide — sînt în mod particular radiosensibile. Imunosupresia prin iradiere are indicații clinice limitate, în special la aplicarea grefelor de măduvă osoasă.

b) *Hormonii corticosteroizi* cu acțiune antiinflamatoare (prototip : cortizolul) au ca structură un lanț principal format din 21 atomi de carbon cu adiția a două lanțuri laterale în poziția 17. În concentrații fiziologice, aproximativ 95% din cortizol este legat de o alfaglobulină, numită *transcortin*. Diferitele forme de corticosteroizi prezintă perioade diferite de persistență în umori și, respectiv,

Scanned with OKEN Scanner

de durată a acțiunii lor antiinflamatoare, antialergice și imunosupresive.

Dacă ne limităm la aspectul efectelor imunosupresive ale hormonilor corticosteroizi, este de remarcat că aceștia pot acționa în moduri și cu intensități variate, în funcție de compusul respectiv și de concentrația acestuia. Se știe că atît în urma unei administrări unice și masive de steroizi, cît și consecutiv administrărilor în doze mici, repetate, repartizate pe perioade mai mari de timp, au loc însemnate modificări la nivelul populațiilor și subpopulațiilor leucocitelor circulante. De regulă, se notează creșterea în cîteva ore a proporției de granulocite periferice, ceea ce are drept consecință o relativă diminuare a densității acestora, mai ales a neutrofilelor, în focarul inflamator, cu diminuarea procesului de fagocitoză și exsudativ local. În ceea ce privește acțiunea asupra limfocitelor circulante, ea este inversă, în sensul că după 4—6 ore de la administrarea de steroizi, numărul de limfocite periferice scade cu 50 %. Această scădere se face mai ales pe seama limfocitelor care migrează spre torentul sanghin și dinspre acesta către organele limfoide (limfocitele T). S-a demonstrat că reducerea numărului de limfocite circulante sub acțiunea steroizilor se explică nu prin liză celulară preferențială, ci prin redistribuirea celulelor în alte compartimente ale organismului, mai ales în măduva osoasă. Scăderea proporției de monocite circulante se produce în paralel cu cea limfocitară.

Relativ la corticosteroizi și aplicarea lor ca imunomodulatori imunosupresivi, trebuie ținut cont de toxicitatea unor preparate, care se manifestă uneori chiar la dozele eficiente pentru realizarea inhibiției imunoreactivității.

c) *Serul antilimfocitar*. Serului animal cu anticorpi orientați către limfocitele umane, în special antilimfocite T, i s-au acordat mari speranțe la începutul deceniului opt. Astăzi, problema utilizării serului antilimfocitar ca imunomodulator imunosupresiv trebuie privită la dimensiunile sale reale, cu avantajele și dezavantajele acestei utilizări.

Avantajele serului antilimfocitar (cu anticorpi antilimfocite T umane) s-au relevat, prin prelungirea supraviețuirii unor grefe sau transplante. Dezavantajele pot fi constituite de :

— declanșarea stării de hipersensibilitate imediată tip III, de tipul bolii serului, datorită introducerii în organism a proteinelor heteroloage ;

Scanned with OKEN Scanner

— prezența în serurile antilimfocitare insuficient adsorbite a unor anticorpi orientați spre alte structuri ale organismului uman (eritrocite, trombocite etc.);

— reducerea, numerică și funcțională, a populației de limfocite T poate să exercite și efecte imunosupresive, ca, de exemplu apariția unor infecții fungice și virale, sau predispoziția la dezvoltarea de tumori.

O parte dintre aceste dezavantaje pot fi prevenite sau diminuate prin :

— utilizarea preparatelor de IgG, în locul serului total;

— adsorbția repetată a serului antilimfocitor cu diferite antigene umane, înainte de introducerea lui ca imunosupresiv în organism;

— inducerea imunotoleranței specifice față de fracțiunea IgG a speciei animale pe care se prepară serul antilimfocitar, înaintea administrării acestuia pentru prelungirea supraviețuirii grefelor.

d) *Antimetaboliții analogi* cuprind :

6—mercaptopurina și azatioprina. 6—mercaptopurina (6—MP) este un analog de hipoxantină în care o grupare tiol înlocuiește gruparea 6—OH. *In vivo*, azatioprina este metabolizată către 6—MP. Ambele substanțe sînt ușor absorbabile după administrarea orală. Importantă este realizarea unui prag de concentrație sanguină eficient; pentru realizarea efectelor imunosupresive, este necesară o concentrație plasmatică de 1—2 micrograme/ml. Eliminarea substanței se produce relativ repede (perioada de înjumătățire durează 30—60 minute la adult și chiar mai puțin la copil). După administrarea orală, 6—MP este oxidată la acid tiouric, formă sub care se elimină prin urină. 6—MP și azatioprina deprimă sinteza de acizi nucleici, substituindu-se ca analogi în structura purinelor, mai precis fiind convertite în organism în ribonucleotizi de 6—MP, 6—metilmercaptopurină și 6—tioguanină (6—TG), de către enzimele care catalizează metabolismul purinelor. Ribonucleotidul care conține 6—MP inhibă competitiv activitatea enzimelor care catalizează convertirea acidului inosinic spre acid xantilic sau acid adenilsuccinic, ca și convertirea acidului adenilsuccinic spre acid adenilic, secvențe cardinale în sinteza de ADN. Pe de altă parte, 6—metilmercaptopurina inclusă în nucleotidul alterat chimic exercită o inhibiție de tip *feed-back* asupra formării de 5—fosforibozilamină, ceea ce conduce indirect la inhibiția sintezei ADN. În sfîrșit, 6—TG

Scanned with OKEN Scanner

poate fi încorporată în molecula ADN ca o bază „falsă"; ducînd la erori în transcripție și/sau replicare.

6—MP și azatioprina prezintă un grad relativ de toxicitate care se manifestă mai ales la nivelul măduvei osoase (leucopenie, mai rar trombocitopenie și anemie). De asemenea, unii bolnavi prezintă unele fenomene de intoleranță (idiosincrazie) și chiar fenomene de hepatopatie toxică.

Cu toate aceste limite, terapia imunosupresivă cu antimetaboliți analogi în doze adecvate se impune, deoarece efectele de deprimare a numărului și funcționalității celulelor limfoide T sînt mai evidente decît cele asupra celulelor B. Alături de această acțiune selectivă la nivelul sistemului limfocitar, 6—MP determină și reducerea numărului de monocite în sîngele periferic.

Metotrexatul este un analog al acidului folic la care un radical CH_3— înlocuiește un H—, iar un radical NH_2— înlocuiește un —OH. Metotrexatul se bazează pe reducerea acidului folic mult mai rapid, avînd o afinitate de 10^5 ori mai mare decît cea a substratului fiziologic (acidul dihidrofolic). Blocarea sintezei normale de polimeri ai acidului folic duce în mod secundar la împiedicarea transferului unui atom de carbon necesar sintezei de timidină, stînjenind în final sinteza ADN. Acțiunea metotrexatului este înalt selectivă asupra celulelor cu capacitate proliferativă înaltă (inclusiv asupra sistemului limfoid), avînd o acțiune litică redusă la nivelul altor țesuturi.

Efectele imunosupresive, exercitate în special asupra limfocitelor B, cu inhibiția sintezei de anticorpi, apar evidente la doze zilnice de 0,1 mg/kg corp. Imunosupresia se instalează mai ales dacă substanța se administrează concomitent cu impactul antigenic sau imediat după acest impact și este minimă dacă antigenul intervine la sfîrșitul curei de metotrexat.

e) *Agenții alchilanți* conțin un radical alchil substituit cu una sau mai multe grupări reactive terminale, de obicei atomi de clorină. O grupare terminală din constituția agentului alchilant reacționează cu o altă moleculă, pe care o leagă covalent.

Dintre agenții alchilanți imunosupresivi, interesează în special *ciclofosfamida*, cu largă întrebuințare în imunologia experimentală și clinică. Are o perioadă de înjumătățire de circa 3—11 ore.

Ca mecanism de acțiune, ciclofosfamida intervine în faza S a ciclului de multiplicare celulară, deși poate afecta și celule în perioada de repaus mitotic.

Scanned with OKEN Scanner

În pofida unor efecte toxice (deprimarea măduvei osoase) și a inducerii unor predispoziții la infecții, ciclofosfamida, administrată în concentrații optime și după scheme potrivite, reprezintă un imunosupresiv cu aplicabilitate în clinică. În acest sens, menționăm cîteva consecințe finale ale tratamentului cu ciclofosfamidă la diferite verigi sau niveluri ale răspunsului imun :

— reducerea marcată a sintezei de anticorpi sistemici, dacă substanța este aplicată după contactul organismului cu antigenul ;

— diminuarea numărului de limfocite din sîngele periferic, mai întîi al limfocitelor B, apoi al limfocitelor T ;

— după tratament îndelungat și în doze mici, diminuarea răspunsului imun celular (prelungirea supraviețuirii grefelor).

La aceste efecte imunosupresive, trebuie adăugate și cele antiinflamatoare.

Ciclofosfamida este indicată ca imunosupresiv în clinica umană, mai ales după grefele de măduvă osoasă și, respectiv, după transplantele de rinichi.

1.3.11.2. Imunomanipularea prin factori adjuvanți în boala canceroasă sau alte stări de imunodeficiență secundară

Folosirea imunoadjuvanților în terapia cancerului și în mai mică măsură în corectarea altor imunodeficiențe secundare este în plină actualitate și are drept scop în esență stimularea mijloacelor imunoreactive prin factori care activează în mod nespecific răspunsul imun (pentru detalii privind imunoadjuvanții și mecanismele lor de acțiune, vezi punctul 1.3.2.2.). Ca și în cazul imunomodulatorilor cu acțiune imunosupresivă se impune reconsiderarea problemei în termenii săi reali, evitîndu-se atît supralicitarea, cît și subestimarea acestei practici de mare viitor în rezolvarea bolilor cu imunodeficit major.

Înainte de a detalia cîteva aspecte legate de aplicarea unor imunoadjuvanți în clinică, este necesară trecerea în revistă a unor principii de imunomanipulare stimulantă, cu mențiune specială pentru boala canceroasă și anume :

— stabilirea prealabilă a stadiului bolii (pe baza criteriilor clinice și fiziopatologice curente) ;

Scanned with OKEN Scanner

— evaluarea gradului de imunocompetență a individului, prin teste de imunitate umorală și celulară față de antigene standard;

— determinarea cît mai exactă prin experimente la animal a capacității imunostimulatoare a adjuvantului;

— precizarea dozelor, frecvenței de administrare și duratei totale în timp a administrărilor (schemelor de imunoterapie);

— clarificarea din timp a diferențelor de eficiență, în funcție de locul de inoculare a preparatului mai aproape sau mai la distanță de sediul principal al procesului imun care urmează a fi stimulat (în cazul cancerului, de localizarea tumorii);

— inserarea imunoterapiei în ansamblul altor practici terapeutice (intervenția chirurgicală, iradierea, chimioterapia etc.).

În cele ce urmează, vom puncta, fără pretenția unei tratări exhaustive a problemei, cîteva aspecte privind imunomanipularea prin adjuvanți.

1.3.11.2.1. Imunoadjuvanții bacterieni

a) *Tulpini de germeni vii (atenuate sau nepatogene).* În acest grup sînt incluse majoritatea preparatelor de imunoadjuvanți bacterieni cu folosire în practica imunoterapiei cancerului sau a unor viroze lente. Dintre aceste preparate, se disting: vaccinul BCG; Corynebacterium parvum; Listeria monocytogenes.

Vaccinul BCG (bacilul Calmette-Guérin). Tulpina vie de bacil tuberculos bovin BCG, folosită de foarte mult timp ca vaccin antituberculos, este o populație de germeni atenuați, care și-a dovedit rolul imunoadjuvant în studii experimentale și clinice, cu deosebire în cancer și în unele viroze cu imunodeficiență secundară.

Privitor la mecanismele prin care BCG își exercită acțiunea imunostimulatoare, ele ar putea fi astfel sintetizate:

— activarea imunității celulare, față de antigenele tumoral-asociate și față de unele antigene virale.

— determinarea proliferării limfocitelor T din formațiunile limfoide învecinate locului de inoculare a preparatului imunoadjuvant;

— modificarea relațiilor dintre limfocitele imunomodulatoare (T ajutătoare și T supresoare), în favoarea, de regulă, a celor T

ajutătoare, ceea ce are drept consecinţă stimularea imunităţii celulare şi umorale;

— activarea puternică a sistemului reticuloendotelial şi, implicit, a proceselor de fagocitoză şi inflamaţie (inclusiv, a procesului de prelucrare a antigenului în macrofag, care precede recunoaşterea antigenică de către limfocitul T sau B antigen-reactiv);

— inducerea în organism a sintezei de interferon, factor care, la rîndul său, exercită efecte imunostimulatoare importante (vezi aliniatul 3.11.2.4);

— provocarea sintezei unui factor umoral, denumit „factorul necrozant de tumoră", cu acţiune litică puternică asupra celulei maligne-antigen.

Aceste mecanisme nu trebuie privite în mod rigid, ca, de altfel întreg ansamblul problemei imunostimulării prin BCG. Astfel, în funcţie de condiţiile modelului de lucru, pe cancere experimentale, s-au observat fenomene particulare şi chiar paradoxale, ca, de pildă:

— scăderea răspunsului limfocitelor T faţă de mitogeni nespecifici (fitohemaglutinină, concanavalină A) după administrarea intravenoasă de BCG, răspunsul blastic al limfocitelor B faţă de unii mitogeni (lipopolizaharizi bacterieni, dextran sulfat) fiind fie intensificat, fie redus;

— uneori, în urma administrărilor repetate de BCG la animalul purtător de tumoră, răspunsul imun celular marchează tendinţa de scădere, paralel cu creşterea activităţii limfocitelor T supresoare splenice, ceea ce demonstrează că şi asupra subpopulaţiilor de celule limfoide imunomodulatoare BCG poate acţiona diferit, în raport cu schema de administrare.

Rezultatele introducerii în clinica umană a BCG ca imunoadjuvant sînt încurajatoare, fără a fi pe deplin concludente. *În boala canceroasă*, rezultatele bune se obţin dacă imunoterapia se aplică precoce, înainte de generalizare şi inconstante sau negative, dacă imunoadjuvantul este administrat mai tîrziu. În general, se poate afirma că rezultatele bune obţinute cu BCG în cancerul experimental nu pot fi extrapolate *ad litteram* în clinică. Explicaţia ţine probabil de anumite particularităţi ale tumorilor umane şi experimentale şi anume: tumorile umane sînt mai slab antigenice şi, deci, mai puţin susceptibile atacului, prin mijloace imune, stimulate de BCG, spre deosebire de tumorile experimentale, cu capacitate de multiplicare rapidă şi timp de dublare a populaţiei redus; cancerele

Scanned with OKEN Scanner

umane, mai ales cele epiteliale, au o rată mai lentă de evoluție, scăpînd oarecum mai ușor de acțiunea imunoreactivității celulare și umorale. În unele *viroze*, experimentale sau naturale, BCG și-a dovedit rolul imunoadjuvant, ca, de exemplu: infecții cu virusuri din grupul Herpes (herpes simplex, citomegalovirus, varicella-zoster); enteroviroze non-polio (Coxsackie, ECHO); arboviroze; infecții latente cu virus rujeolic (panencefalita sclerozantă subacută demielinizantă) etc.

Corynebacterium parvum. Locul speciei nepatogene de Corynebacterium parvum între imunoadjuvanții bacterieni cu germeni vii este important. S-a stabilit că, spre deosebire de BCG, care acționează mai ales prin stimularea imunității mediate celular, C. parvum activează cu precădere imunitatea umorală. Principalele mecanisme prin care C. parvum își realizează acțiunea imunoadjuvantă sînt:

— creșterea ratei de sinteză a anticorpilor;

— stimularea activității complementului pe calea directă și alternativă;

— activarea macrofagelor și, în speță, a funcției acestora de prelucrare a antigenului;

— accelerarea procesului de formare a cuiburilor de celule macrofagice în măduva osoasă;

— producerea de interferon;

— stimularea activității celulelor NK (natural-citotoxice).

În general, se consideră, pe baza materialului experimental existent, că acest imunoadjuvant deprimă, în mod paradoxal, imunitatea celulară (negativarea reacțiilor de hipersensibilitate întîrziată; prelungirea supraviețuirii grefelor).

În speță, activitatea imunostimulatoare a speciei C. parvum în tumori se realizează prin creșterea rapidă a titrului de imunoglobuline serice specifice față de antigenele tumoral-asociate, precum și a altor anticorpi, fără orientare către antigenele tumorii.

Ca și în cazul BCG, efectele C. parvum depind de schemele de administrare, uneori notîndu-se chiar inhibarea răspunsului imun umoral față de eritrocite heteroloage.

Imunoterapia *cancerului uman* cu C. parvum se leagă de aceleași dificultăți și impune aceleași reguli, ca și imunoterapia cu BCG (tratament cît mai precoce, diferențiat). Rezultate mult mai bune s-au obținut în cazul asocierii imunoterapiei cu chimioterapia cito-

Scanned with OKEN Scanner

statică (ciclofosfamidă) și cu administrare de preparate de germeni inactivați (vezi mai jos, aliniatul b). În ceea ce privește imunoterapia *virozelor*, C. parvum și-a dovedit utilitatea în infecții cu virus herpes simplex și în unele arboviroze.

Listeria monocytogenes. Studiile experimentale prefigurează un nou „candidat" între imunoadjuvanții bacterieni cu tulpini vii cu rol în imunoterapia cancerului. Listeria monocytogenes își exercită efectele de stimulare a imunoreactivității antitumorale prin activarea limfocitelor T (și implicit a imunității celulare) și, respectiv, prin activarea funcțiilor celulelor macrofage.

b) *Vaccinuri bacteriene inactivate*. Unele preparate de celule bacteriene inactivate, administrate sub formă de suspensii injectabile, pot stimula imunitatea antitumorală, în principal prin producerea de interferon, ca și prin activarea unor verigi ale imunoreactivității umorale.

Cele mai bune rezultate au fost obținute cu vaccinurile bacteriene mixte, conținînd stafilococ Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, cu diverse denumiri comerciale, dintre care menționăm : Staphage Lysate, MBV, Pseudogen, Hollister-Stier's Mixed Respiratory Vaccine.

Alți autori notează diminuarea procesului de generalizare a cancerului după administrare de suspensii de bacterii inactivate, conținînd o singură specie (Lactobacillus bulgaricus ; Brucella ; Pseudomonas aeruginosa ; etc.).

Efectele imunoterapiei cancerului cu germeni bacterieni inactivați pot fi potențate prin așa-numita metodă a „inducerii și resuscitării", care constă în inocularea de stafilococ (tulpină vie), urmată de administrarea vaccinului bacterian mixt cu germeni inactivați.

c) *Toxinele bacteriene*. Dintre acestea, citățm :

Lipopolizaharidele (LPS) enterobacteriene.

LPS extras din diferite specii și tulpini de enterobacterii (Escherichia coli, Proteus, Salmonella, Vibrio) reprezintă un imunoadjuvant cu proprietăți salutare în oncologie.

LPS acționează prin următoarele mecanisme principale :

— efecte de mitogen policlonal pentru limfocitele B ;

— stimularea limfocitelor B în diferențierea pentru răspunsul imun umoral față de diverse antigene ;

— activarea limfocitelor T ajutătoare, cu creșterea consecutivă a nivelului imunoreactivității umorale și celulare ;

Scanned with OKEN Scanner

— producerea de interferon (mecanism demonstrat drept principal în cazul asocierii imunoterapiei cu BCG și LPS).

Exotoxinele. S-au făcut unele încercări, cu reușită parțială, de imunostimulare în cancer, folosind exotoxine bacteriene. Dintre acestea, notăm :

— reducerea de volum a unor tumori și prelungirea perioadei premergătoare metastazărilor (sarcoame), după administrare de amestec toxină eritrogenă streptococică/toxină de Serratia marcescens ;

— prelungirea ratei de supraviețuire a șoarecilor inoculați cu tumoră ascitogenă Ehrlich, după tratament *in vivo* cu filtrate de cultură KO—31 de Fusobacterium nucleatum.

d) *Componente ale peretelui celular bacterian.* Unele tentative de imunoterapie în boli cu imunodeficiență secundară se referă la folosirea unor substructuri ale peretelui celular provenind de la stafilococi sau actinomicete.

Proteina A stafilococică a stafilococului auriu (tulpina Cowan I) are proprietatea de a se uni, datorită înaltei afinități, cu fragmentul Fc al imunoglobulinelor. În afara largii utilizări a proteinei A stafilococice (SpA) în imunologia experimentală și în diagnosticul imunobiologic, astăzi se profilează folosirea sa în perfuzie la cazuri de cancer uman. Rațiunea constă în faptul că SpA se unește cu factorii imuni blocanți din plasma bolnavului cu cancer, factori cu rol inhibitor asupra imunității anticanceroase, prin mascarea antigenelor de pe suprafața tumorii. Rezultate bune s-au obținut în adenocarcinoamele mamare de șobolan sau cîine, ca și la carcinomul de colon sau adenocarcinomul pulmonar la om (regresiunea tumorii).

Peptidoglicanii, polimeri de mucoproteine din structura peretelui celular bacterian și fungic, exercită unele efecte imunostimulatoare. Astfel, peptidoglicanul extras din peretele unei specii de actinomicete (Nocardia corynebacterioides) are o acțiune mitogenă puternică atît asupra limfocitelor T splenice, cît și asupra timocitelor de șoarece.

1.3.11.2.2. Extractele timice

Cercetări experimentale au demonstrat că unele extracte de timus (timozina alfa ; factorul timic X) substituie unele din funcțiile limfocitelor T ajutătoare. Pe lîngă acest mecanism, timozina

Scanned with OKEN Scanner

alfa ar acționa prin cuplarea și cu unele haptene, devenind proteină-purtător și facilitînd astfel recunoașterea haptenei de către limfocitele B antigen-reactive în răspunsul imun umoral.

Încercările de introducere în clinică a extractelor timice pentru ameliorarea stărilor de imunodeficiență primară sau secundară pe linie celulară au dat unele rezultate încurajatoare.

1.3.11.2.3. Imunoadjuvanții chimici (sintetici)

a) *Levamisolul* (*tetrahidro-6-fenilimidazotiazolul*). Utilizat multă vreme ca un antihelmintic, astăzi i se recunoaște acestui preparat un rol imunoadjuvant puternic. Mecanismele prin care levamisolul acționează ca imunostimulator, în special în cancer, sînt:

— stimularea răspunsului imun celular după administrarea de antigen (creșterea ratei de sinteză a unor limfochine, în special a celor care acționează pe macrofag);

— intensificarea proliferării blastice a limfocitelor T după tratarea acestora *in vitro* cu mitogeni (fitohemaglutinină, concanavalină A);

— creșterea proporției de limfocite T ajutătoare în sîngele periferic după administrare *in vivo*;

— activarea macrofagelor prin: accelerarea procesului de migrare și chimiotactism; favorizarea prelucrării antigenului în fagolizozomi; creșterea sensibilității membranei celulare a macrofagului față de fragmentul Fc al anticorpilor IgG citofili și față de componenta C_3 a complementului;

— creșterea fagocitozei bacteriene la nivelul granulocitelor neutrofile;

— potențarea sintezei de interferon leucocitar după stimulare *in vitro* cu mitogeni (fitohemaglutinină) și asociere a levamisolului în sistem.

Indicațiile imunoterapiei cu levamisol pot fi grupate în două mari categorii:

— stări de imunodeficiență primară, reversibilă (capacitate imunoreactivă scăzută, dar recuperabilă, la copii cu sindrom Di George, hipogamaglobulinemii sau insuficiențe de tip Wiscott-Aldrich).

— boli cronice cu imunodeficiență secundară (cancer, unele infecții cronice, anumite stadii ale artritei reumatoide etc.).

Scanned with OKEN Scanner

Dacă ne referim în particular la perspectivele utilizării levamisolului în imunoterapia bolii canceroase la om, aspectele se aseamănă cu cele întîlnite la imunoterapia cu imunoadjuvanți bacterieni (BCG, Corynebacterium parvum), rezultatele fiind cu atît mai bune, cu cît tratamentul se aplică mai precoce și asociat cu chimioterapia. Studiile pe cazuri de cancere cu imunodeficiență secundară accentuată, atestată prin negativarea testelor cutanate de hipersensibilitate întîrziată (PPD, dinitroclorbenzen) au arătat că cele mai rezistente la tratamentul cu levamisol au fost cazurile de boală Hodgkin, și că au răspuns cel mai bine cazurile de melanom și de carcinom al laringelui.

b) *Izoprinozina (Inoziplexul)*

Izoprinozina este un complex format din trei componente chimic diferite (acid p-acetamidobenzoic, 1-dimetilamino-2-propanol, izozină), în proporție de 3 : 3 : 1 (raport de molaritate). Este lipsit de toxicitate și acționează imunostimulator prin :

— creșterea sintezei de anticorpi sistemici ;

— activarea răspunsului blastic al limfocitelor T, fie la antigene, fie la mitogeni nespecifici (fitohemaglutinină) ;

— activarea capacității macrofagelor de a prelucra antigenul.

Izoprinozina are efecte imunostimulatoare în unele forme de cancer uman, în fazele timpurii, cît și în unele viroze cu imunodeficiență secundară (infecții cu virus Herpes simplex sau cu virus gripal).

1.3.11.2.4. Interferonul

Definit inițial drept un complex glicoproteic cu punct izoelectric scăzut, apărut într-o celulă în urma agresării acesteia de către un virus și care protejează celulele de aceeași specie împotriva unei infecții virale autoloage sau heteroloage, interferonul cuprinde de fapt o familie mai numeroasă, atît sub raportul substratului celular în care are loc sinteza, cît și al factorilor inductori, care pot fi și nevirali. Pe de altă parte, la acțiunea locală de protecție a interferonului, se adaugă astăzi efecte însemnate asupra răspunsului imun și reactivității organismului în general.

Scanned with OKEN Scanner

Se consideră astăzi trei categorii distincte de interferon :

— interferonul alfa (alfa-IF), preparat din leucocite normale sau linii celulare limfoblastoide, sub acțiunea unui agent inductor viral ;

— interferonul beta (beta-IF), preparat din celule embrionare (fibroblaste), sub acțiunea unui agent inductor viral sau a inductorilor nevirali (polinucleotide sintetice ; ADN dublu-catenar) ;

— interferonul gama (gama-IF) sau imun-interferonul preparat din leucocite normale sau linii limfoblastoide de celule T, stimulate *in vitro* cu mitogen (fitohemaglutinină) sau antigene.

Mecanismele prin care interferonul poate acționa ca imunoadjuvant sînt în esență următoarele :

— stimularea subpopulației de limfocite T ajutătoare ;

— stimularea imunității celulare, atît prin creșterea nivelului unor limfochine (factorul inhibitor al migrării macrofagelor, factorul mitogen, limfotoxina), cît și prin accelerarea recunoașterii antigenului de către limfocitul T antigen-reactiv) ;

— stimularea citotoxicității naturale (prin celule NK).

Dintre aceste modalități, stimulării activității celulelor NK i se acordă o însemnătate primordială. Toate cele trei categorii de interferon, dar cu precădere alfa-IF și beta-IF măresc potențialul reactiv al celulelor NK în contact cu celula tumorală-țintă, ceea ce s-a demonstrat atît prin experimente *in vivo* la animale cu tumori induse, cît și *in vitro*. Punerea în contact a celulelor NK cu celule tumorale-țintă și interferon este urmată de creșterea de 50—100 ori a capacității litice NK, apreciată prin eliberarea de crom radioactiv din celulele-țintă marcate. Aceste date sînt în mare măsură confirmate de unele studii clinico-experimentale. Astfel, la voluntari umani sănătoși sau purtători de tumori, care au primit injecții de interferon pe cale intramusculară și subcutanată, activitatea NK crește, atingînd un maximum după 24 ore de la administrare. Problema nu este definitiv tranșată la om, deoarece la cazuri de tumori ovariene, care au primit interferon cu 18 ore înainte de intervenția chirurgicală, s-a notat, e drept, creșterea postoperatorie a activității sanghine, dar nu s-a putut decela un fenomen evident de invadare a tumorii de către celulele NK.

Toate cele trei categorii de interferon prezintă efecte imunostimulatoare. Din punct de vedere practic, interesează dozajul optim al substanței (exprimat în unități internaționale/mg proteină),

Scanned with OKEN Scanner

stabilit a fi între 1×10^6 și 10×10^6 unități internaționale/mg proteină. Preparatele de interferon intrate în uz pentru imunoterapia cancerului sînt mai ales cele de alfa- și, respectiv, beta-interferon. Cele mai bune rezultate au fost notate în unele hemopatii maligne (mieloame IgA) și mai puțin în cancerele solide (rezultate parțial favorabile în cancerul pulmonar metastazat și în osteosarcom și rezultate slabe sau nule în melanom). Răspuns bun la tratamentul mixt — general și local — cu interferon au dat unele cazuri de tumori ale colecistului sau de meduloblastoame.

Ca și în cazul tratamentului cu imunoadjuvanți bacterieni cu germeni vii (BCG, Corynabacterium parvum), imunoterapia cancerului cu preparate de interferon trebuie privită obiectiv și critic, ținînd seama de avantajele și limitele sale, cu o notă în plus de optimism, justificat de succesele certe obținute și de mai buna corelare între datele experimentale și cele clinice.

Încheind subcapitolul referitor la imunomanipulare prin factori imunoadjuvanți, pentru a preveni atît euforia exagerată, cît și scepticismul excesiv, reproducem un citat din Barber (1980): „Principalul inconvenient al imunoterapiei este că ea nu acționează totdeauna foarte bine și adeseori nu acționează deloc".

Scanned with OKEN Scanner

2. IMUNOPATOLOGIA LEGATĂ DE SFERA CHIRURGICALĂ

2.1. Imunoreactivitatea și actul chirurgical

Medicația pre-, intra- și postoperatorie poate interfera cu răspunsul imun umoral sau celular, cu precădere pe două direcții și anume: *inducerea unor reacții de hipersensibilitate imediată față de medicamente* și *imunosupresia medicament-indusă*. Le vom trata pe rînd, atît în ceea ce privește mecanismele de acțiune, cît și aspectele clinice și conduita terapeutică.

2.1.1. Reacții de hipersensibilitate imediată față de medicamente

Folosirea pe scară largă a numeroase medicamente, atît înainte, în timpul pregătirii preoperatorii, cît și în timpul intervenției și, mai ales, pentru recuperarea postoperatorie a deschis un capitol nou de patologie, cuprinzînd o sferă mult mai largă decît aceea a imunopatologiei. Nu ne vom referi, în acest context, la efectele toxice ale unor medicamente și nici la reacții fiziopatologice de șoc care nu implică răspunsul imun, ci numai la reacțiile de hipersensibilitate imediată sau de intoleranță ca rezultat al impactului medicament-sistem de reactivitate specifică.

2.1.1.1. Aspecte clinice

Există o serie de criterii clinice obligatorii pentru diagnosticarea reacțiilor de hipersensibilitate față de medicamente. În primul rînd se impune ca reacția să nu semene cu rezultatul acțiunii farmacologice cunoscute a medicamentului. În al doilea rînd, această reacție

Scanned with OKEN Scanner

trebuie să fie declanşată de cantităţi mici de medicament. În al treilea rînd, reacţia trebuie să se instaleze după o perioadă de latenţă de cel puţin 5 sau 7 zile de la contactul cu medicamentul. În al patrulea rînd, reacţia de hipersensibilitate faţă de medicament trebuie să includă simptome clasice, proprii reacţiilor declanşate de alergene macromoleculare normale, naturale ca : anafilaxie, urticarie, boala serului. În al cincilea rînd, pentru a incrimina o reacţie alergică faţă de un anumit medicament, ea trebuie să reapară prompt în urma readministrării aceluiaşi medicament în cantităţi mici. O ultimă condiţie este ca reacţia să fie reprodusă şi de către alte medicamente cu structuri chimice asemănătoare substanţei care a declanşat fenomenele reactive, deci să existe o imunitate încrucişată.

Chiar cînd aceste criterii au fost bine stabilite, rămîne totuşi dificil de incriminat cu certitudine natura imunologică a unei asemenea reacţii.

Manifestările imunologice pot fi limitate la un singur organ sau la un ansamblu de organe, iar sindroamele clasice ale reacţiilor alergice, ca de exemplu urticaria sau bronhospasmul, pot să lipsească.

Pe de altă parte, simptomele care sugerează o alergie imediată pot fi datorate eliberării, sub acţiunea medicamentului, a unor mediatori farmacodinamici ca histamina sau serotonina sau efectelor directe ale drogului asupra unor receptori celulari.

Existenţa unor perioade de latenţă după prima administrare a medicamentului sensibilizant, contrastînd cu apariţia promptă a simptomelor de hipersensibiliza rela readministrarea aceluiaşi medicament, nu trebuie absolutizată în toate cazurile ca patognomonică pentru reacţiile alergice. Spre exemplu, o perioadă de latenţă de una sau cîteva săptămîni de la administrarea unui medicament pînă la apariţia simptomatologiei poate fi explicată şi prin toxicitatea cumulativă a medicamentului care nu are un mecanism alergic.

Pe de altă parte, dacă readministrarea medicamentului se face după o perioadă mai lungă de la prima sensibilizare, simptomele alergice pot să nu apară imediat, necesitînd chiar cîteva zile de latenţă.

Reacţiile de hipersensibilizare imună pot să se producă foarte repede, chiar după prima expunere la medicament, în cazul în care apare o reacţie încrucişată cu alţi compuşi faţă de care pacientul era sensibilizat în prealabil.

Cel mai greu se face distincţia între reacţiile alergice de *hipersensibilitate imediată propriu-zisă* şi *idiosincraziile nonimunologice la medicamente*. În idiosincrazie este vorba de o creştere anormală

a susceptibilității față de un anumit medicament, proprietate determinată genetic într-o anumită grupă de populație cu o configurație particulară a antigenelor de histocompatibilitate. Aceasta se datorește deseori unui deficit enzimatic izolat; de exemplu, anemia hemolitică cauzată de primachin sau de alte medicamente care interferează cu procesele oxidative în hematia deficitară în glucozo-6-fosfatdehidrogenază. Din punct de vedere al terapiei intensive și al sferei chirurgicale ne interesează și alte exemple ca, de pildă, apneea datorată compușilor de hexametoniu, anemia megaloblastică datorată unor anticonvulsivante sau anemia hemolitică provocată de către metaboliți ai fenacetinei. Dar — așa cum arătam mai sus — aceste reacții de idiosincrazie cu bază genetică nu trebuie confundate cu reacții de hipersensibilitate care recunosc mecanisme imunologice.

În consecință, criteriile clinice enunțate sînt prin ele însele adeseori inadecvate sau insuficiente pentru a stabili un diagnostic ferm al unei reacții imunoalergice față de anumite medicamente administrate pre-, intra- sau postoperator. Se depun astăzi eforturi susținute în vederea identificării obiective a prezenței unui alergen medicamentos capabil să provoace reacții de hipersensibilitate sau a anticorpilor sensibilizanți apăruți consecutiv (reagine IgE). Majoritatea medicamentelor folosite astăzi sînt sintetice și cu greutate moleculară mică (sub 2 000 daltoni), ceea ce le deosebește net din punct de vedere imunologic de antigenele macromoleculare „naturale".

În ceea ce privește manifestările clinice ale unei reacții de hipersensibilitate la medicamente, ele sînt foarte diverse și ar putea fi sistematizate astfel:

2.1.1.1.1. Șocul anafilactic

Reacțiile de tip anafilactic, cunoscute clasic ca manifestări față de administrarea de proteine străine, cum ar fi ser de altă specie sau de extracte tisulare de altă specie, se întîlnesc și în cazul administrării unor medicamente în sfera chirurgicală a terapiei. Reacțiile anafilactice față de medicamente sînt caracterizate prin colaps cardiovascular acut, însoțit de hipotensiune arterială. Caracterul tipic al acestor reacții constă în faptul că ele se dezvoltă rapid și ating un maximum după 5 —30 de minute de la administrarea medicamentului. Simptomele însoțitoare pot să mai includă: greață, vărsături, urticarie, prurit și eritem difuz, bronhospasm, edem laringian, aritmie

Scanned with OKEN Scanner

cardiacă, hiperperistaltism. Mai frecvent însă, simptomele de tip anafilactic sînt limitate numai la o stare de discret disconfort cu vertij, după cum în unele cazuri se pot instala fenomene grave cu evoluție letală în cîteva minute. Medicamentul cel mai frecvent incriminat în apariția reacțiilor anafilactice este penicilina. Mortalitatea prin șoc anafilactic la penicilină a fost estimată în Statele Unite ale Americii la 300 cazuri pe an, dar este foarte greu de obținut o informație precisă asupra incidenței acestui accident.

Alte medicamente sau substanțe care pot produce reacții de tip anafilactic sînt substanțele iodate folosite pentru examinări radiologice, anestezicele locale, vitamina B12, streptomicina, dextranul, bromsulfonftaleina, tetraciclina, cefalosporinele, mercurialele organice, unele opiacee (cum este heroina) etc. Este important de reținut că administrarea *intravasculară* a unor medicamente poate de asemenea provoca un șoc pe bază imunologică. Reacțiile acute care urmează administrării penicilinei se datorează efectului toxic asupra sistemului nervos central sau microembolusurilor formate din cristale de penicilină care declanșează fenomene de hipersensibilizare imediată. Reacțiile de șoc față de substanțele de contrast folosite în radiologie pot fi atribuite și eliberării de amine vasoactive prin mecanisme nonimunologice, dar și intervenției hipersensibilității imune imediate de tip I (prin reagine IgE, capabile de a produce degranularea mastocitară).

2.1.1.1.2. Sindromul bolii serului

Există posibilitatea apariției unui sindrom întru totul similar bolii serului (descris după administrarea de ser heterolog) și după administrarea unor medicamente pre-, intra- și/sau postoperator. În acest sens, sînt incriminate mai ales penicilina, streptomicina, sulfamidele, difenilhidantoina, acidul aminosalicilic, tiouracilul și unele substanțe de contrast pentru radiologie.

Sindromul bolii serului apare după 5 —14 zile de la prima administrare a medicamentului și se caracterizează printr-o erupție urticariană generalizată, febră, artralgii, tumefierea articulațiilor, limfoadenopatie. Uneori se asociază episoade scurte de glomerulonefrită sau alte fenomene inflamatoare la nivelul organelor interne. În sindromul bolii serului datorat penicilinei, anticorpii sensibili-

Scanned with OKEN Scanner

zan ți sînt prezenți în umori și probabil ei sînt responsabili de manifestările cutanate. Alteori, simptomele articulare și febra predomină iar semnele cutanate pot lipsi.

2.1.1.1.3. Manifestări cutanate

Manifestările cutanate singulare, datorate mecanismelor imunologice în reacțiile alergice față de medicamente, se produc la foarte mulți pacienți care prezintă predispoziție alergică la anumite substanțe, dar aceste manifestări nu sînt caracteristice pentru un anume medicament și pot fi provocate și prin mecanisme nonimunologice. Dacă ne referim însă la problema în speță a manifestărilor cu mecanism strict imunologic de hipersensibilitate imediată, ele se reduc la prurit, urticarie (care poate să persiste mult timp după administrarea drogului și chiar după eliminarea drogului din organism), eritem, dermatită exfoliativă, eritem multiform, erupții buloase, purpură (cu sau fără trombocitopenie), eczemă și fotosensibilizare.

2.1.1.1.4. Manifestări hematologice

a) *Trombocitopenia.* Trombocitopenia pasageră este o reacție alergică comună la medicamente. Cele mai importante medicamente care cauzează trombocitopenie sînt *sulfamidele*, *cloramfenicolul*, *tiouracilul*, *meprobamatul*, *fenilbutazona*. De asemenea *compușii carbamidici* cum este alilizopropilacetilcarbamidul provoacă trombocitopenie pe bază imunologică prin hipersensibilizare de tip imediat.

Manifestările clinice sînt constituite de hemoragie și de leziuni cutanate petesiale la care se mai pot adăuga și alte fenomene alergice tipice cum sînt febra sau artralgiile. Aceste fenomene apar după aproximativ o săptămînă de la sensibilizare, deci de la al doilea contact cu medicamentul respectiv. Trombocitopenia se repetă la fiecare readministrare a medicamentului.

În cazul trombocitopeniei determinate de acetaminofen, au fost chiar identificați în umori anticorpi specifici față de sulfoconjugatul medicamentului.

Unii autori recomandă ca test de diagnostic scăderea bruscă a nivelului trombocitelor în sîngele periferic după expunerea la o doză minimă de medicament, testul pozitiv indicînd o predispoziție a pacientului pentru sensibilizare la acel medicament.

Scanned with OKEN Scanner

b) *Agranulocitoza.* Un număr de medicamente s-au dovedit capabile de a induce agranulocitoza, mai ales aminopirina şi derivaţii ei de pirazolon, tiouracilul, sulfamidele, anticonvulsivantele, cloramfenicolul, fenotiazinele. După întreruperea terapiei cu medicamentele respective se poate produce — în circa 1—2 săptămîni — o agravare a stării generale, datorată infecţiei intercurente, care nu poate fi stăpînită din cauza absenţei apărării cu ajutorul granulocitelor neutrofile. Readministrarea unor cantităţi mici de medicament duce la diminuarea bruscă a numărului de leucocite periferice. Distrucţia periferică a leucocitelor este un fenomen major, dar nu unic, el însoţindu-se uneori de modificări ale măduvei osoase. Nu este încă bine lămurit dacă modificările în morfologia măduvei osoase reflectă o stimulare exagerată a măduvei după distrucţia leucocitară rapidă sau dacă interacţiunea între medicament şi anticorpii specifici determină un efect toxic secundar asupra precursorilor granulocitari. Există însă informaţii certe cu privire la implicarea mecanismelor imunologice în agranulocitoza indusă de unele medicamente, folosite preintra- şi/sau postoperator.

c) *Anemia aplastică.* Cloramfenicolul este agentul incriminat cel mai frecvent în determinarea unei anemii aplastice prin mecanisme imunologice sau nonimunologice. Există însă şi alte medicamente care pot să provoace o asemenea manifestare, ca de exemplu sulfamidele, fenilbutazona, anticonvulsivantele. Totuşi, în cazul anemiilor aplastice induse de medicamente, intervenţia constantă a mecanismelor imunologice nu a fost încă dovedită cu certitudine.

d. *Anemia hemolitică.* Anemia hemolitică, datorată alergiei la medicamente, trebuie deosebită de anemia hemolitică indusă de medicamente la un organism deficitar genetic în glucozo-6-fosfatdehidrogenază eritrocitară. Dacă ne referim strict la anemia hemolitică indusă prin mecanisme imunologice, ea se poate produce după administrarea de acetofenitoidină, acid paraaminosalicilic, antazolină, penicilină, metildopa. Mai ales anemia hemolitică datorată administrării de doze înalte de penicilină este o afecţiune aflată în atenţia cercetătorilor în ultimii ani, sub raportul investigaţiilor imunologice.

2.1.1.1.5. Vasculita şi leziunile ţesutului conjunctiv

Modificările vasculare sînt deseori uşor de demonstrat la pacienţi cu „boala serului", febră indusă de medicamente şi alte sindroame apărute în urma administrării de medicamente sensibilizante,

Scanned with OKEN Scanner

în care leziunea este primar localizată într-un singur organ. Leziunile vasculare se produc cu precădere în vasele mici și sînt însoțite de infiltrație celulară, pînă la necroză acută.

Vasculita minoră poate să nu ducă la manifestări clinice evidente. În formele severe, vasele din multe organe pot fi implicate, ca de exemplu cele din piele sau din rinichi.

În afara leziunilor cutanate petești ale, se mai pot nota : proteinurie și hematurie (ca manifestări ale leziunilor renale), simptome deseori însoțite și de febră, dermatită, artralgii, edeme și mai rar de miozită, arterită coronariană, pneumonie sau hemoragii gastrointestinale.

Medicamentele administrate pre-, intra- sau postoperator pot fi frecvent implicate în vasculitele severe, ca de exemplu penicilina, derivații de pirazolon, sulfamidele, promazinele, tetraciclina, iproniazida, tiouracilul. La bolnavii cu boli vasculare inflamatoare cronice variate, trebuie să se aibă în mod deosebit în vedere posibilitatea apariției unei vasculite alergice la medicamente. Anumite medicamente care cauzează vasculita acută sînt capabile să inducă o formă cronică de inflamație vasculară, ce se poate prelungi timp de săptămîni sau luni, ca de exemplu vasculita cu mecanism imunologic provocată de hidralazină sau tiouracil.

Un sindrom clinic care imită bine artrita reumatoidă și lupusul eritematos diseminat, cu sau fără prezența celulelor lupice în sînge, este cel provocat de terapia prelungită cu hidralazină și mai puțin frecvent — de terapia cu alte medicamente cum ar fi procainamida.

Un sindrom pseudolupic a fost de asemenea atribuit pirazolonului sau derivaților de pirazolon, în cazul tratamentului postoperator al tromboflebitelor.

Alte date se referă la modificările inflamatoare cronice ale țesutului conjunctiv sub acțiunea medicamentelor sensibilizante. În acest caz însă, este foarte greu de precizat în ce măsură intervin mecanismele imunologice de sensibilizare sau este vorba de alte mecanisme (efect toxic sau impact cu alte verigi fiziopatologice avînd răsunet final la nivelul țesutului conjunctiv).

2.1.1.1.6. Leziuni hepatice

În cadrul problematicii pe care o tratăm, ne interesează îndeosebi administrarea în perioada perioperatorie de clorpromazină, tiouracil,

Scanned with OKEN Scanner

sulfamide, acid paraaminosalicilic și unele anestezice, care în cantități mici pot determina leziuni hepatice implicînd și mecanisme imunologice de producere.

Leziunile hepatice induse de către medicamente prin hipersensibilizare imunologică pot fi de două tipuri : fie obstrucția vaselor biliare intrahepatice, cu leziune hepatocelulară secundară, pînă la necroză (în acest caz aspectul clinic semănînd cu acel al unei hepatite virale), fie colestază (determinată mai ales de clorpromazină, metiltestosteron, tiouracil), în care leziunea hepatocelulară este pe primul plan. În ambele tipuri, leziunea hepatocelulară secundară sau primară se asociază frecvent cu : febră, raș cutanat, eozinofilie, hepatomegalie și limfadenopatie. Aceste semne clinice sînt prezente paralel cu leziunile hepatice de hipersensibilizare la medicamente ca : sulfamide, acid paraaminosalicilic, derivați de indandion, halotan, metoxifluran, fenilbutazonă, zoxazolamină, nitrofurantoin, iproniazid, indometacin, izoniazid, clorpropamid, eritromicină și alfametildopa. Testele de provocare cu doze mici de medicament sugerează în unele cazuri intervenția unor mecanisme de hipersensibilizare imună.

Este demn de remarcat faptul că în unele cazuri limfocitele periferice aparținînd bolnavilor cu icter indus prin izoniazidă, aminosalicilat sau halotan pot fi stimulate *in vitro*, cu apariția transformării blastice specifice prin expunere la același medicament, ceea ce reprezintă o dovadă certă de implicație a mecanismelor imunologice.

2.1.1.1.7. Febra

Febra este o manifestare comună a alergiei la medicamente asociată sau nu cu alte simptome. Medicamentele care își traduc acțiunea de sensibilizare îndeosebi prin apariția unor valori termice înalte sînt *sulfamidele, tiouracilul, procainamida, streptomicina, penicilina, anticonvulsivantele, acidul paraaminosalicilic* și *diureticele mercuriale.*

2.1.1.1.8. Nefropatia

Glomerulonefrita este destul de frecvent întîlnită ca sindrom pasager în alergia la medicamente, deși mai rar decît leziunea

hepatică. Este de menționat, în cazuri de excepție, apariția unei alergii cu nefrită interstițială datorată polimixinelor.

Desigur, și în cazul reacțiilor anafilactice poate să apară ca sindrom secundar nefroza tubulară acută consecutivă hipotensiunii arteriale prelungite.

Există semnalate în literatură și cazuri de nefrită interstițială la care s-a indentificat atît histopatologic, cît și prin teste fine de imunofluorescență, prezența unor complexe imune circulante specifice pentru penicilină, precum și a autoanticorpilor orientați către proteinele din membrana bazală a tubilor renali.

Date mai puțin certe, dar probabile, incriminează alte medicamente, ca fenacetina sau salicilatul în determinarea unor stări de hipersensibilitate imunologică manifestată prin nefrită interstițială cronică.

2.1.1.1.9. Limfadenopatia

Limfadenopatia este un semn însoțitor al alergiilor la medicamente. De pildă, reacțiile de hipersensibilitate la penicilină sau griseofulvină pot să fie însoțite de adenopatie generalizată. Limfadenopatia are tendința de a ceda rapid după oprirea terapiei cu medicamentul respectiv.

2.1.1.1.10. Manifestări respiratorii

Uneori se constată semne de astm bronhic după ingestia sau injecția de medicamente, asociate cu urticarie. Din acest punct de vedere, aspirina stă pe primul loc ca agent provocant. Fenomenele de hipersensibilitate la aspirină cu manifestări de astm bronhic și urticarie recunosc cu certitudine mecanisme imunologice de producere.

Tot fenomene de astm bronhic se pot observa la bolnavi hipersensibilizați după inhalarea de penicilină sau derivați de penicilină. Uneori, hipersensibilitatea la medicamente se manifestă și prin apariția unui infiltrat pulmonar cu eozinofile, adenopatie hilară și așa-numita „pneumonie alergică". Aceste fenomene apar mai ales prin hipersensibilizare cu nitrofurantoin, sulfamide, acid aminosalicilic, penicilină, azatioprină.

Scanned with OKEN Scanner

2.1.1.1.11. Cardiopatia

Asocierea miocarditei, a coronaritei și a pericarditei cu hipersensibilitatea imediată față de medicamente a fost menționată uneori. O dovadă sigură în acest sens nu a fost adusă însă pînă în prezent.

2.1.1.2. Mecanisme de producere

Hipersensibilitatea imediată sau alergia la medicamente implică mecanisme complexe pe care le vom sistematiza astfel:

— factori legați de antigenicitatea medicamentului alergizant;

— factori legați de organismul sensibilizat.

2.1.1.2.1. Factori legați de antigenicitatea medicamentului

O serie de studii experimentale au clarificat unele mecanisme prin care un medicament devine alergen. Aceste studii se leagă de noțiunile privitoare la *inducerea imunității* cu ajutorul unor antigene artificiale, deci prin cuplarea unei haptene cunoscute cu o proteină-purtător cunoscută.

În ceea ce privește problema în speță a factorilor legați de medicament ca alergen, trebuie luate în considerare următoarele date experimentale:

a) *Formarea unui conjugat antigenic între o haptenă și un purtător proteic reprezintă o necesitate absolută pentru inducerea unui răspuns imun față de haptenă. Haptena este constituită de nucleul activ din formula structurală a unui medicament*, fie prin injectarea conjugatelor haptenă/purtător preparate în prealabil *in vitro*, fie prin administrarea unei substanțe chimice simple, care se conjugă *in vivo* cu o proteină-purtător autoloagă. Deși proteinele cu moleculă mare sînt de regulă cele mai eficiente în rolul de purtător, în cazul inducerii alergiei experimentale la medicamente, s-a dovedit că și oligopeptidele și polizaharidele pot servi în anumite condiții ca purtători de antigene, respectiv de alergene medicamentoase.

În ultimii ani s-a demonstrat posibilitatea obținerii conjugării directe a unor haptene chimice medicamentoase cu elemente structurale legate de membranele celulare, de exemplu de monocite sau de

Scanned with OKEN Scanner

macrofage, ceea ce a condus la concluzia că aceste categorii de celule joacă un rol important în inducerea sensibilității de tip imediat la medicamente.

Problema de esență în teoria conjugării între haptenă și purtător, cu referire specială la alergia medicamentoasă, este tipul de legătură între determinantul antigenic și purtătorul său. Pe baza numeroaselor studii experimentale s-a stabilit că numai conjugatele formate prin legături covalente sînt de fapt antigenice, respectiv alergenice.

Experimentele cu albumine metilate sau cu oligopeptide încărcate electrostatic ca purtător par să indice, cu toate acestea, că moleculele atașate de asemenea purtători prin legături necovalente pot deveni de asemenea imunogene, respectiv alergene. Dar stabilitatea conjugatului haptenă medicamentoasă/purtător este în aceste cazuri minimă și se impune, de regulă, adăugarea unei substanțe care să consolideze cuplarea pentru ca întreg complexul să funcționeze ca alergen veritabil.

b) *Capacitatea unei haptene simple din punct de vedere chimic de a induce un răspuns imun de hipersensibilizare imediată depinde de capacitatea sa de a se conjuga* in vitro *cu o proteină-purtător*. Haptenele medicamentoase potențial sensibilizante sînt puternic reactogene și pot fi cu ușurință cuplate *in vitro* cu proteine, formînd conjugate solide. Acele haptene care nu sînt capabile să formeze legături covalente cu proteinele *in vitro* nu pot induce sensibilizare după administrarea lor experimentală la animal. Gradul în care o haptenă simplă se leagă reversibil de proteinele serice nu influențează în mod evident capacitatea sa sensibilizantă. La haptenele care diferă sub raportul capacității de inducere a hipersensibilității imediate, de exemplu derivații halogenați ai seriei dinitrobenzenului, se remarcă o corelație netă între rata de conjugare cu proteinele *in vitro* și frecvența inducerii sensibilizării *in vivo* la animal.

În unele condiții, anticorpii formați prin sensibilizare cu ajutorul unei haptene simple *in vivo* sînt specifici nu numai față de componenta inițială injectată, ci și față de structuri haptenice modificate, formate prin legături covalente cu o proteină-purtător, aparținînd receptorului animal. În aceste cazuri, alergia medicamentoasă recunoaște și un mecanism parțial autoimun.

Scanned with OKEN Scanner

c) *Activitatea imunologică de sensibilizare imediată prin medicamente poate fi datorată şi „contaminanţilor" antigenici sau degradării compuşilor administraţi, în cursul metabolizării lor în organism.* Formarea *in vivo* de anticorpi faţă de un agent sensibilizant medicamentos care nu are structură proteică susţine această teză. Există o singură excepţie de la această regulă şi anume adsorbţia puternică a unor compuşi cu greutate moleculară mică pe membranele celulare, fenomen care se traduce prin apariţia unei sensibilizări, ca de pildă în cazul sărurilor de metale (nichel, beriliu, crom).

d) *Există o dimensiune minimă a unui antigen medicamentos care îi asigură acestuia proprietatea sensibilizantă.* În această privinţă experienţele cu oligopeptide au dus la concluzia că o haptenă medicamentoasă cuplată cu un oligopeptid trebuie să aibă o anumită greutate moleculară pentru a induce un răspuns de hipersensibilitate imediată.

În condiţiile în care conjugatul haptenă-aminoacizi devine antigenic, respectiv alergenic, o analiză mai amănunţită evidenţiază instalarea unui fenomen de „transconjugare" *in vivo*, care de fapt ar fi responsabil de antigenicitate, spre deosebire de complexul haptenă-purtător injectat, care ar interveni numai mediat. Pe de altă parte este puţin probabil ca un medicament cu greutate moleculară mică şi neconjugat să inducă un răspuns imun de sensibilizare imediată.

e) *Factorii necesari producerii unor reacţii de sensibilizare imediată la medicamente şi care ţin de alergenul propriu-zis, diferă fundamental de factorii care induc o reacţie de hipersensibilizare întîrziată* (de tip tuberculinic). (Vezi punctul 1.3.10.2.4.)

Privitor la hipersensibilitatea imediată de tip I, care de cele mai multe ori include şi alergia medicamentoasă, ea recunoaşte mecanisme cu totul deosebite, aşa cum arătam la punctul 1.3.10.2.1.

Pe de altă parte, haptenele medicamentoase necombinate sau univalente sînt capabile ca, odată introduse *in vivo*, să inhibe specific reactivitatea de tip anafilactic, fenomen similar blocării anticorpilor prin precipitare, în cazul adăugării de antigen, în alte sisteme imune experimentale.

Inhibiţia reacţiilor alergice *in vivo* prin haptene univalente reprezintă cea mai puternică dovadă că reacţia este mediată de anumite grupări determinante din structura alergenului medicamentos. Pentru o inhibiţie completă este nevoie de un exces de haptenă univalentă sau de un antigen plurivalent în cantităţi moderate. Pro-

Scanned with OKEN Scanner

cesul poate fi reversibil (legarea labilă a haptenei cu situsurile de combinare ale anticorpilor, prin competiție) sau ireversibil (formarea unor agregate stabile între anticorpi și antigenul multimolecular alergenic, care duce apoi la eliberarea de amine vasoactive sau la activarea complementului).

f) *Haptenele univalente neconjugate nu induc reacții de hipersensibilitate imediată de tip anafilactic* in vivo, *decît dacă posedă un grad înalt de reactivitate cu proteinele organismului.* Cu alte cuvinte, este necesară formarea rapidă a unui conjugat haptenă medicamentoasă/proteină-purtător a organismului, care să asigure apoi imunizarea, respectiv hipersensibilizarea de tip imediat.

g) *Cînd o haptenă simplă, medicamentoasă, este capabilă de dimerizare sau polimerizare, se pot forma antigene plurivalente fără ca să se producă concomitent și conjugarea cu o proteină purtător în organism.* Există unele date despre inducerea unor reacții medicamentoase de tip imediat prin haptene univalente care posedă numai lanțuri alifatice lungi sau agregate cu încărcătură electrostatică pozitivă. Aceste reacții reprezintă probabil rezultatul unor agregări nespecifice ale haptenei *in vivo* sau al legării acesteia de membranele celulare, rezultînd apariția unor antigene multivalente și a unor complexe antigen-anticorp. Asemenea polimeri pot fi neantigenici sau pot să inducă hipersensibilitatea imediată. Acumularea de dimeri și polimeri în soluțiile de medicamente — de exemplu în soluțiile de penicilină— este probabil principalul factor responsabil pentru apariția unor reacții de tip anafilactic la asemenea medicamente.

La fel de însemnată este și apariția sau prezența de „contaminanți" macromoleculari, de exemplu a unor impurități proteice sau substanțe aditive macromoleculare (cum este carboximetilceluloza), capabile să funcționeze ca purtător în produsul medicamentos propriu-zis. Pe de altă parte, chiar în cazul unor haptene medicamentoase puternic reactive, cum ar fi dinitrofluorbenzenul, se poate produce un șoc anafilactic letal la animale sensibile, după administrarea de cantități minime de conjugate haptenă/purtător proteic preformat.

h) În cursul declanșării reacțiilor alergice de tip imediat la medicamente se poate ca *un antigen multivalent să acționeze ca un factor pasiv,* care *se leagă de situsurile combinative ale anticorpilor serici.* Există dovezi directe și indirecte care arată că legarea prin punți a două situsuri combinative de anticorp pe suprafața mem-

Scanned with OKEN Scanner

branei mastocitare din ţesutul conjunctiv, prin intermediul alergenului, este suficientă pentru a iniţia eliberarea de produşi histaminici. Pe de altă parte, s-a demonstrat că antigenele bivalente cu greutate moleculară mică pot induce fenomene anafilactice, chiar dacă determinanţii haptenei sînt foarte îndepărtaţi din punct de vedere chimic, ceea ce s-ar explica, probabil, tot prin legarea acestei haptene de unele situsuri combinative de pe anticorpii liberi sau de pe anticorpii ataşaţi la unele membrane celulare.

S-a demonstrat, în sfîrşit, în acelaşi context, că reacţiile de hipersensibilitate imediată şi activarea complementului pot avea loc prin formarea unei reţele multimoleculare tridimensionale între antigenul medicamentos, respectiv alergenul medicamentos, şi anticorpii circulanţi.

2.1.1.2.2. Factori legaţi de organismul sensibilizat

În declanşarea stărilor de tip hipersensibilitate imediată la medicamente, factorii care ţin de organism sînt, de regulă, mai importanţi chiar decît factorii legaţi de agentul sensibilizant în sine. Reacţiile alergice au loc relativ rar la om, dacă ţinem seama de numărul medicamentelor potenţial sensibilizante. Dintre factorii legaţi de organism, menţionăm :

a) *Vîrsta şi sexul.* Reacţiile alergice faţă de medicamente se produc mult mai puţin frecvent la copii decît la adulţi. Acest fapt se datoreşte probabil mai curînd acumulării mai intense a substanţei la adult, decît unei diferenţe intrinseci, privind capacitatea reactogenă în raport cu vîrsta. Cu toate acestea, în cazuri rare, se pot nota reacţii alergice severe chiar la copii foarte mici, în urma administrării de medicamente sensibilizante. În acest sens, un exemplu ilustrativ îl oferă şocul de tip anafilactic la penicilină care poate să survină la sugari. Deşi nu există o dovadă evidentă a cauzelor, se ştie că în majoritatea cazurilor incidenţa reacţiilor la medicamente administrate în doze similare şi pe aceleaşi căi este mai mare la femei decît la bărbaţi.

b) *Factorii genetici* joacă un rol important în dezvoltarea hipersensibilităţii imediate la medicamente. Deşi s-a stabilit că bolnavii cu o constituţie atopică, deci cu predispoziţie la stări alergice faţă de medicamente, în special faţă de penicilină, sînt mai expuşi la reacţii

adverse de tip anafilactic și față de alte medicamente decît cele cunoscute ca puternic sensibilizante, studii recente arată că acest lucru nu este totdeauna valabil. Într-adevăr, alergia de tip imediat la alergene medicamentoase injectabile, cum ar fi penicilina, veninul de insecte sau insulina, în contrast cu alergenele inhalate sau ingerate, nu ar avea capacitate sensibilizantă crescută la organismele cu structură atopică, comparativ cu organismele normale sau mai puțin predispuse la sensibilizare.

Sensibilizarea de tip anafilactic la penicilină apare frecvent la indivizi nonatopici și foarte mulți bolnavi cu alergie la medicamente nu prezintă o hipersensibilizare reziduală legată de constituția lor genetică.

În afară de predispoziția genetică determinantă pentru formarea reaginelor IgE consecutivă expunerii la cantități mici de alergeni (atopia propriu-zisă), factorii genetici mai intervin probabil și prin inducerea în mod particular la unii indivizi a capacității de sensibilizare față de o anumită substanță terapeutică.

În experiențele cu antigene chimice sintetice s-a dovedit cu certitudine că răspunsul imun de hipersensibilizare anafilactică se găsește sub influența factorilor genetici, că așa-numitele „gene ale imunității" care sînt legate de genele de histocompatibilitate sînt responsabile de aceste fenomene. S-au notat anumite diferențe genetice (de alotip) privind sensibilizarea cobailor la diferite medicamente, cum ar fi aspirina sau hidralazina.

Ca regulă generală, cu cît un antigen este mai simplu din punct de vedere chimic, deci cu cît posedă mai puțini determinanți antigenici per haptenă, cu atît predispoziția genetică pentru sensibilizare apare mai evidentă.

Studiile farmacogenetice au adus dovada că există numeroase variații individuale în ceea ce privește metabolizarea medicamentelor, fenomen determinat de asemenea genetic.

Din punct de vedere teoretic, se poate presupune că factorii genetici pot interveni la diferite niveluri în lanțul biochimic care determină în final sensibilizarea, cum ar fi : formarea de metaboliți reactivi sau capacitatea congenitală de a sintetiza selectiv anticorpi specifici față de o anume structură chimică dată. Identificarea antigenelor de histocompatibilitate din sistemul HL—A (vezi punctul 2.3.1.2.) la bolnavi alergici la penicilină nu a evidențiat vreo asociere pregnantă cu alelele locusului HL—A—A sau HL—A—B.

Scanned with OKEN Scanner

c) *Bolile intercurente.* Incidența alergiei medicamentoase poate fi influențată de boli care afectează metabolismul și excreția medicamentului, ca de pildă hepatitele sau nefropatiile cronice, deși acestea interferă mai mult cu acțiunea toxică a medicamentului. Teoretic, reacțiile la medicamente s-ar produce mai puțin frecvent la bolnavii a căror capacitate de răspuns imun este scăzută. Cu toate acestea, s-a observat că unii bolnavi hipogamaglobulinici sînt capabili să prezinte erupții de tip exantematos la medicamente. Pe de altă parte, bolnavii cu sarcoidoză sau cu ciroze, prezentînd și o stare de hiporeactivitate celulară (imunodeficiență secundară), ar trebui să prezinte în mod logic, dermatită de contact sau exantem la medicamente, într-o proporție mai mică. Cu toate acestea, destul de frecvent, acești bolnavi manifestă urticarie sau alte reacții de tip anafilactic după administrarea unor medicamente.

S-a afirmat că bolnavii cu lupus eritematos diseminat ar fi mai susceptibili la reacțiile alergice față de medicamente, ceea ce nu a fost însă susținut cu dovezi convingătoare.

d) *Variațiile individuale în reactogenitatea față de medicamente.* Posibilitățile experimentale deschise de tehnicile imunochimice rafinate în ceea ce privește studiul hipersensibilității, îndeosebi la penicilină, au permis investigarea calitativă exhaustivă a răspunsului imun față de acest antibiotic, la om. Cea mai importantă concluzie trasă din aceste cercetări a fost că *prezența unui răspuns imun de hipersensibilizare imediată la penicilină este considerabil mai mare decît era de așteptat, luînd ca referință incidența reațiilor alergice manifeste din punct de vedere clinic.*

Este evident că un procent înalt dintre bolnavii care au primit penicilină sintetizează anticorpi serici IgM. Folosind tehnica de hemaglutinare pasivă care este foarte sensibilă, acest procent ar varia între 20 și 100%. În orice caz, apare ca cert faptul că răspunsul imun de sensibilizare față de medicament poate să nu fie clinic evident. Aceasta impune necesitatea interpretării în mod discriminat, bine individualizat, a datelor clinice, astfel încît acestea să poată fi puse de acord cu informațiile furnizate de analizele imunochimice pentru detectarea anticorpilor serici specifici față de medicament. (Vezi punctul 2.1.1.3.3.)

Scanned with OKEN Scanner

Trebuie să se reţină şi faptul că formarea de anticorpi *per se* este uneori un fenomen fiziologic şi nu se asociază neapărat cu simptome clinice evidente.

O altă concluzie importantă ce rezultă din studiile asupra hipersensibilizării la penicilină este că manifestările clinice de hipersensibilitate depind nu numai de influenţa tipurilor de anticorpi induşi de medicament, ci şi de proporţia relativă între variatele clase şi subclase de imunoglobuline prezente la diferire intervale de timp după administrarea alergenului medicamentos.

În majoritatea cazurilor, prezenţa anticorpilor IgM nu conduce la apariţia de simptome clinic manifeste, iar anticorpii IgM manifestă chiar o acţiune protectoare, această protecţie depinzînd de subclasa individuală de IgG formată. Pe de altă parte, semnalăm că la bolnavii cu titruri decelabile de anticorpi IgE serici, în cadrul unei reactivităţi de tip anafilactic, titrurile înalte de anticorpi IgG asociaţi sînt suficiente pentru a acţiona competitiv cu antigenele medicamentoase, împiedicînd actualizarea clinică a reacţiilor de hipersensibilitate imediată atopică.

În cazul urticariei induse de penicilină ca şi în sindromul care imită boala serului după administrarea de medicamente, dispariţia leziunilor cutanate coincide deseori cu o creştere marcată a titrului de anticorpi IgG serici.

Nu trebuie neglijată nici posibilitatea intervenţiei — uneori prioritare — a unei hipersensibilităţi de tip întîrziat la medicamente. De exemplu, febra medicamentoasă şi mai ales exantemele tipice macropapulare care apar mai tîrziu (după 24—48 de ore de la cel de-al doilea contact cu medicamentul) reprezintă uneori expresia unui răspuns imun celular de tip întîrziat, deşi unii autori au incriminat şi în acest caz intervenţia anticorpilor IgM, asociindu-se astfel hipersensibilitatea de tip imediat pe linie umorală cu hipersensibilitatea de tip celular. Folosirea testelor de imunitate celulară, cum ar fi de pildă transformarea blastică a limfocitelor T în prezenţa penicilinei la indivizii cu fenomene de sensibilizare la acest antibiotic, a relevat pozitivitate, ceea ce confirmă intervenţia posibilă a imunităţii celulare, deci a hipersensibilităţii întîrziate în unele alergii medicamentoase.

Scanned with OKEN Scanner

2.1.1.3. Diagnosticul stărilor de hipersensibilitate la medicamente

2.1.1.3.1. Anamneza

Determinarea prin interogatoriu a istoriei cazului respectiv, cu precădere a faptului că un anume bolnav manifestă hipersensibilitate față de un anume medicament, are o importanță mai mică în cazul alergiei la medicamente legate de sfera chirurgicală. Totuși este bine ca atunci cînd se pregătește un bolnav pentru intervenție să fie întrebat dacă are cumva intoleranță la anumite medicamente, pentru a le evita pe cît posibil. În orice caz, trebuie pusă întrebarea dacă bolnavul are în antecedente stări de alergie la penicilină.

2.1.1.3.2. Testele cutanate

Testele cutanate care se efectuează prin scarificare sau prin injecție intradermică cu soluții standard de medicamente, sînt menite să depisteze hipersensibilitatea imediată la aceste droguri. Un mare obstacol în această problemă îl constituie slaba solubilitate a majorității medicamentelor în apă și implicit dificultatea de a prepara soluții standard în concentrații deopotrivă sensibilizante și neiritante pentru piele.

Testele cutanate cu medicamente pot fi revelatoare chiar în cazurile în care manifestările clinice sînt mai estompate sau necaracteristice la un anumit medicament, de pildă testul la fenacetină. Interpretarea depinde și de coroborarea rezultatului testului cutanat cu datele furnizate de interogatoriu, deci de istoria cazului.

Progresele în diagnosticul alergiei medicamentoase pot fi considerate substanțiale, mai ales după ce s-a pus la punct folosirea de truse cu mai multe alergene medicamentoase standard purificate și conținînd o concentrație bine determinată. Din acest punct de vedere se preconizează uneori cuplarea unei haptene cunoscute ca fiind sensibilizantă (și care intră în compoziția unui medicament) cu o proteină-purtător nesensibilizantă (deci un conjugat plurivalent). Un exemplu în acest sens îl oferă prepararea unui complex polilizină/peniciloil, acesta din urmă reprezentînd haptena, iar prima oligopeptidul purtător. Injectarea intradermică a acestui complex decelează foarte bine starea de sensibilizare la penicilină. Pentru sfera

Scanned with OKEN Scanner

chirurgicală este important ca în anumite cazuri, cînd și anamneza cazului o indică, să se facă și teste cutanate care să preceadă intervenția chirurgicală sau tratamentul postoperator.

2.1.1.3.3. Testele serologice

Dintre testele serologice cele mai importante s-au dovedit *testele de hemaglutinare*, în care caz medicamentul este capabil să se lege covalent de eritrocite. Eritrocitele cuplate cu medicamentul sînt incubate *in vitro* și apoi puse în contact cu serul bolnavului. Dacă bolnavul posedă reagine (care sînt și hemaglutinine), în prezența acestor anticorpi se produce aglutinarea eritrocitelor. În general, anticorpii hemaglutinanți din stările de hipersensibilitate imediată aparțin clasei IgG sau IgM, dar din păcate concentrația lor serică este deseori prea scăzută pentru ca testul să fie suficient de sensibil. În cazul în speță al alergiei la penicilină, prezența anticorpilor hemaglutinanți poate fi corelată cu anamneza și cu pozitivarea testelor cutanate. Majoritatea medicamentelor nu prezintă însă afinitate spontană față de eritrocite. Deaceea, este indicat să se folosească alte procedee ca, de pildă, prepararea prealabilă a unor conjugate, cu legarea secundară a acestora de eritrocit, prin intermediul unui alt reagent, care ușurează cuplarea.

Alte metode serologice, cu valoare mai mică în determinarea alergiilor medicamentoase, sînt și *imunodifuzia* și *imunoelectroforeza*, în special *imunodifuzia în gel*, prin care se detectează concentrația înaltă de anticorpi IgE. Există un test denumit *RAST* (Radio-Allergo-Sorbent Test), cu următorul principiu : în gel se include ser standard anti-IgE, iar în godeurile respective se pune ser de testat pentru detectarea imunoglobulinelor IgE.

Anticorpii IgE antipenicilinoil pot fi detectați cu metode mai sensibile și decelarea lor prezintă o mare importanță în coroborarea cu anamneza și testele cutanate pentru atestarea alergiei la penicilină.

2.1.1.3.4. Eliberarea de produși histaminici (amine vasoactive)

Leucocitele periferice, în special bazofilele, eliberează *in vitro* produși histaminici (amine vasoactive) în contact cu alergenele, dacă organismul donator de celule este sensibilizat. Acest test manifestă mai

puțină sensibilitate în cazul alergiei la medicamente. În testul direct pot fi folosite bazofile ca atare. În testul indirect, bazofilele sanguine umane sînt sensibilizate în prezența serului de bolnav. Acest test are însă inconvenientele unor fluctuații de la caz la caz, datorită fragilității bazofilelor și altor variabile care îl fac neconcludent. Dealtfel, cum menționam mai sus, în cazul în speță al alergiei medicamentoase, testele de eliberare a produșilor histaminici sînt nesatisfăcătoare.

2.1.1.3.5. Reacții limfocitare pentru decelarea hipersensibilității întîrziate

Există, așa cum menționam la punctul 2.1.1.2.2., și cazuri mai rare de alergie medicamentoasă în care sînt implicate mecanisme de imunitate celulară. În aceste cazuri, limfocitele T periferice reacționează *in vitro* specific, în contact cu alergenele medicamentoase respective. Ca teste, se pot folosi : *transformarea blastică limfocitară* prin aprecierea încorporării de timidină tritiată sau *inhibiția migrării macrofagelor*.

2.1.1.3.6. Teste de provocare

Testele de provocare în alergia medicamentoasă trebuie folosite rar și cu foarte multă precauție. Acestea sînt complet contraindicate la bolnavii care prezintă reacții severe. Este vorba de introducerea unei cantități determinate din alergenul suspect. Cu atît mai puțin se indică aceste teste preoperator, atunci cînd se presupune că terenul bolnavului este precar.

2.1.1.4. **Tratamentul stărilor de hipersensibilitate la medicamente**

Tratamentul acestor tipuri de alergii se bazează în special pe *desensibilizare*, după principiile clasice de administrare, la anumite intervale relativ scurte, a unor doze crescînde din alergenul la care organismul este sensibilizat. De asemenea, se pot administra antihistaminice, corticosteroizi și alte antialergice. În cazul alergiei la penici-

Scanned with OKEN Scanner

lină, o metodă care cîştigă tot mai mulţi adepţi este administrarea unei haptene univalente de peniciloil, care protejează specific bolnavii alergici la penicilină împotriva unor reacţii alergice mediate prin anticorpi.

2.1.2. Stări imunosupresive legate de actul chirurgical și medicația aferentă

2.1.2.1. Imunosupresia indusă de reacția postoperatorie

Reacţia imunitară, parte integrantă a reacţiei postagresive, se înscrie ca unul dintre mecanismele principale ale homeostaziei.

Existenţa organismelor vii este rezultatul unui echilibru permanent între agresiunea exercitată de factori ai mediului extern şi tendinţa de conservare a unei stabilităţi morfofuncţionale. Organismele unicelulare realizează păstrarea integrităţii lor prin mecanisme biologice primitive, apropiate de mecanismele fizice şi chimice, cum sînt: schimburile ionice, transmembranare, care îşi propun să păstreze o homeostazie ionică şi osmotică. Este o primă schiţă de imunitate.

Chiar şi lumea vegetală se foloseşte de mecanisme de apărare nespecifice (opsonizare, liză etc.).

Pe măsura dezvoltării filogenetice, organismele superioare, păstrînd mijloacele primitive de apărare, verificate de timp, realizează noi mecanisme, tot mai adecvate, specifice, de apărare împotriva agresiunilor foarte variate pe care mediul extern le exercită asupra lor.

În acest context se vorbeşte în ultima vreme tot mai mult în cadrul reacţiei postagresive despre o reacţie imună. Se admite în general că solicitarea metabolic-endocrină postagresivă duce într-un timp mai scurt sau mai lung la o scădere a capacităţii de răspuns imun. Această scădere pare să fie proporţională cu intensitatea stresului.

Intervenţia chirurgicală este desigur un tip special de agresiune care îşi propune un scop curativ, benefic pentru organism, de împotrivire contra unor agresiuni mult mai puternice care necombătute ar putea duce la efecte grave asupra integrităţii organismului. Realizată cu mijloace moderne, intervenţia chirurgicală nu trebuie

Scanned with OKEN Scanner

să constituie prin ea însăși o agresiune, ci o terapie intensivă a agresiunii de bază, terapie intensivă care se realizează, evident, prin mijloace chirurgicale și medicale.

Fără a intra în amănunte, vom preciza că o intervenție chirurgicală corect executată, cu o indicație bună, sub o anestezie care să asigure o analgezie bună, o protecție vegetativă bună și o hemodinamică corespunzătoare, reprezintă în contextul actual al practicii medicochirurgicale un moment de agresiune minoră, astfel încît noțiunea de *stres* sau *șoc operator* ni se pare exagerată.

Desigur, impactul anestezicochirurgical există, dar există și posibilități ca acest impact să nu se constituie ca *stres*. Mai corectă ni se pare exprimarea de *reacție postoperatorie*, o formă particulară, de intensitate mult diminuată, a reacției postagresive.

Concentrîndu-și atenția spre influența reacției postoperatorii asupra mecanismelor de răspuns imun, cercetătorii au remarcat că există o scădere a capacității imunologice în perioada postoperatorie. S-a încercat corelarea acestui fenomen cu diferiți factori ce țin de intervenția chirurgicală, de medicația aferentă actului operator, de anestezie etc.

Se pare că unul din factorii care influențează cel mai mult capacitatea de răspuns imun în perioada postoperatorie este durata și extensia intervenției chirurgicale (Walton, 1977).

Un fapt care ar putea să capete o pondere în viitor este legat de observațiile lui Alexander, Dionigi și Meakins (1971) după care există un ciclu normal de variație a activității fagocitare și de diminuare a reactivității limfocitare în cadrul ritmicității biologice. Alegerea momentului operator ar trebui să țină cont și de aceste bioritmuri. Ridlle (1967) a sugerat efectul imunosupresiv mediat de substanțe eliberate de către țesuturile lezate în timpul intervenției chirurgicale. Park și colab. (1971) a confirmat această presupunere, subliniind însă și rolul pe care îl joacă corticoizii în reacția imunosupresivă postoperatorie. Încercînd să sistematizăm mecanismele prin care este influențată capacitatea imunoreactivă în perioada postoperatorie și să le corelăm cu factorii care determină această modificare, ne-am oprit asupra următoarelor puncte, pe care le vom prezenta în cele ce urmează : modificări ale mecanismelor nespecifice și specifice de apărare imună ; efectele reacției endocrinovegetative asupra răspunsului imun ; efectele anesteziei asupra reacției imune ; imunosupresia postoperatorie și implicațiile sale asupra frecvenței

Scanned with OKEN Scanner

infecțiilor postoperatorii; denutriția—circumstanță favorizantă în diminuarea capacității imunitare.

2.1.2.1.1. Modificări ale mecanismelor nespecifice și specifice de apărare imună

Forbes (1976) demonstrează că fluxul mucociliar este scăzut în timpul anesteziei generale. Annis, Landa și Lichtiger (1976) confirmă același lucru, demonstrînd că efectul este amplificat de atropină și de FiO_2 peste 0,5 (Sachner și colab., 1975).

Experiențe mai vechi, pe șoareci, ale lui Goldstein și colab. (1971) relatau scăderea activității bactericide pulmonare după anestéziile cu ciclopropan și metoxifluran. Donovan (1967) raporta că scăderea fagocitozei este proporțională cu durata intervenției, iar Moudgil și colab. (1977) au arătat că atracția chimiotactică a fagocitelor și limfocitelor spre focarul inflamator, scade după expunerea la diferite substanțe medicamentoase.

Cercetări mai vechi ale lui Pickerell (1938), reluate și confirmate de Magalini și Scrascia (1974), au demonstrat inhibiția diapedezei transvasculare și marginale după anestezia cu eter dietilic. Benson și colab. (1956) au raportat scăderea concentrației de protrombină în perioada postoperatorie, iar Saba (1970) arăta că stimularea opsonică a fagocitozei scade după expunerea la eter etilic, gradul acestei scăderi fiind însă mai mare în timpul intervenției chirurgicale.

Alexander, Hegg și Altmeier (1968), în cercetări asupra funcției reticuloendoteliale în șoc, insistau asupra faptului că fenomenul de diminuare a acestei funcții este dependent de modificările concentrației hormonilor (catecolamine și cortizol). Corelînd cu „stresul" chirurgical, ei concluzionează că aceste modificări sînt dependente de intensitatea acestui stres.

În privința intervențiilor chirurgicale asupra tubului digestiv, trebuie luate în discuție și fenomenele de hipofuncție a secreției digestive și a secreției de mucus care protejează în mod normal mucoasele aparatului digestiv. Aceasta se produce în perioada postoperatorie, favorizînd grefarea florei microbiene aflate în tubul digestiv. Scad de asemenea IgA secretoare care îndeplinesc, ca și lizozimul, funcții importante în protecția mucoaselor aparatului digestiv. La bolnavii gastrectomizați cărora le dispare sau li se

micșorează foarte mult acidul clorhidric din stomac, sterilizarea conținutului gastric nu mai are loc, ceea ce duce la creșterea microbismului intestinal.

2.1.2.1.2. Efectele reacției endocrinovegetative asupra răspunsului imun

Reacția endocrinovegetativă postoperatorie determină o creștere relativ importantă a concentrațiilor de catecolamine și cortizol. Desigur, descărcările mari de catecolamine și vehicularea lor în circulația sistemică sînt urmate de manifestările clinice cunoscute (vasoconstricție, hipoxie, acidoză). În cazul reacției postoperatorii, concentrațiile de catecolamine pot fi diminuate printr-o analgezie bună, printr-o ventilație corectă și o perfuzie tisulară adecvată. S-au citat în ultima vreme numeroase argumente în favoarea efectului negativ al hipoxiei tisulare (legate în context clinic de concentrații crescute de catecolamine) asupra funcției imunitare. Astfel Mandache (1957) arată că hipoxia favorizează scăderea funcțiilor de apărare. În condiții de hipoxie la animale șocate, virulența microbiană este net exacerbată. Evaluarea s-a făcut prin determinarea indexului bactericid. Același autor raportează în 1960 observația că la cîini cu șoc traumatic apar colibacili în bilă și urină după numai 6 ore.

Intervențiile chirurgicale mari și în special intervențiile din sfera digestivă realizează condiții favorabile hipoxiei, mai ales atunci cînd sînt extensive, de lungă durată și executate cu o acuratețe tehnică deficitară. Traumatizarea organelor tubului digestiv cu striviri de intestin subțire, stomac sau colon, deschiderea lumenului septic al tubului digestiv, diferite obstacole în tranzitul normal gastrointestinal, preexistente intervenției sau survenite după operație, interceptări ale vaselor cu stază retrogradă, favorizează ileusul digestiv și hipoxia, corelate strîns cu hipoirigația și hiperstimularea adrenergică.

Complicațiile postoperatorii (stenozele, sindromul de ansă stagnantă, colecțiile peritoneale, fistulele digestive) cresc elementul de risc, fiind factori favorizanți ai hipoxiei și indirect ai hipercatecolaminemiei.

Acestor observații trebuie să li se adauge și cele ale lui Fine (1962) care a arătat că la bolnavii cu hipoxie hepatică se constată

o scădere netă a funcției antitoxice hepatice. Hormonii cel mai des incriminați în modificarea funcției de apărare imunitară, în sensul scăderii, rămîn totuși hormonii steroizi. Încă din 1949, Michael a raportat efecte de hiporeactivitate nespecifică (prezența leucopeniei după administrare de cortizol). În 1953, Dougherty și Franck atrăgeau atenția asupra unuia din efectele cortizolului și anume modificarea morfofuncțională a țesutului limfatic.

Efectele certe de scădere a capacității de apărare nespecifică menționate mai sus au însă la bază alterarea metabolismului celular la nivelul organelor implicate în funcțiile imunitare. Astfel, Kidson (1967) notează în cercetări experimentale reducerea proceselor de sinteză proteică, iar Young (1969) relatează diminuarea procesului de mitoză celulară și a metabolismului celular general la nivelul timusului.

Dar acțiunea metabolică a cortizonului pare să fie mult mai mare. Astfel s-a stabilit că steroizii diminuează sinteza de ARN, intervenind în procesele cele mai importante ale metabolismului celular. S-au adus argumente experimentale care atestă și o acțiune asupra sitemului celular, cu scăderea capacității de prelucrare a glucozei de către limfocite. La om efectele metabolice ale cortizonului asupra metabolismului limfocitului par să fie mici, dar este sigur că stimularea mitogenică specifică crește efectul inhibitor al cortizonului asupra sintezei ARN și asupra prelucrării glucozei la nivelul celular. S-a presupus ca posibilă o interferență a efectelor steroizilor cu efectele catecolaminelor prin intermediul AMP ciclic (Claman 1972).

Desigur extrapolarea unor rezultate experimentale pe animale la clinica umană este dificilă, cu atît mai mult cu cît s-a stabilit că animalele se comportă diferit în ceea ce privește răspunsul la corticoizi. Astfel, Claman (1972) arată că există specii steroid-sensibile și specii steroid-rezistente, omul făcînd parte din ultima categorie.

Creșterea concentrațiilor plasmatice de cortizol este proporțională cu extensia și durata intervenției chirurgicale. Astfel, dacă în mod normal concentrațiile de cortizol sînt de 0,15 micrograme la 1 ml (echivalentul a 0,04 de înmulțit cu 10^{-7} mol/l), cu limita superioară 0,22 micrograme/ml ($6{,}1 \times 10^{-7}$ mol/l), la 2 ore după operație Berembaum (1973) a constatat creșteri pînă la 0,4—0,6 micrograme/ml ($11-17 \times 10^{-7}$ ml/l). Același autor notează că intervențiile mici nu sînt urmate de creșteri importante ale cortizolemiei.

Craddock (1971) remarcă comportamentul diferit al celulelor limfoide la aceeași specie. Astfel, asupra timocitelor (neimunocom-

petente) cortizolul administrat în doze uzuale are acțiune depresoare importantă, pe cînd asupra limfocitelor cu imunocompetență instalată nu exercită nici un efect. În urma acestei observații, devine explicabil faptul că scăderea foarte marcată a numărului de timocite nu este urmată de scăderea capacității imun-reactive. Comportament asemănător au și celulele timodependente intrate în amestecul celular circulant (Cohen, 1972; Bloomgreen, 1973).

În doze mici (1 microgram/ml) pe culturi celulare, cortizolul distruge celulele irevelante imunologic, dar păstrează eficiența citotoxică crescută asupra celulelor timice. Precursorii limfocitelor medulare sînt steroid-sensibili. Limfocitele derivate din măduvă sînt steroid-rezistente, dar—paradoxal—limfocitele T din splină, descendente din limfocitele medulare, sînt steroid-sensibile. Și în cazul limfocitelor B, apariția imunocompetenței actuale pare să determine comportamentul față de cortizol (Cohen, 1972).

Cercetări ale lui Miller (1967) și Claman (1971) au arătat că plasmocitele sînt corticoid-rezistente.

2.1.2.1.3. Efectele anesteziei asupra reacției imune

Încă de la apariția primelor substanțe anestezice, în cadrul multitudinii de întrebări pe care și le-au pus cercetătorii, problema efectului acesteia asupra capacității de apărare a organismului împotriva infecțiilor a constituit o preocupare importantă. Desigur, cunoștințele despre substanțele anestezice, tehnicile foarte complicate și mai ales posibilitățile actuale de ventilație și perfuzie fac ca unele observații mai vechi să-și păstreze doar un caracter istoric.

Vom aminti, dintre datele mai vechi, numai cîteva în care se întrevede un spirit de discernămînt acut, dar și rezultate contradictorii.

Astfel, Chadbourne (1966) și Mann (1916) au observat și raportat creșterea numărului de leucocite după anestezia cu eter etilic și au legat acest fenomen de efectele simpaticomimetice ale drogului. Evident, aceste efecte erau deosebit de intense într-o perioadă în care se folosea eterul ca monoanestezic, probabil în faze și grade superioare de anestezie.

Schweitzer (1932)—confirmat de Smith, Oster și Snydel (1948)—au desris, dimpotrivă, leucopenie după anestezii cu barbiturice, eter etilic și cloroform, la unele specii, deci în experiență pe animal.

Scanned with OKEN Scanner

Ei au atribuit acest fenomen toxic direct sau redistribuției leucocitelor, Dougherty și Frank (1953), reluînd experimentele, au raportat nu numai creșteri ale numărului de neutrofile și limfocite, dar și modificări în distribuția și mobilizarea lor. În experiențe pe animale, s-a notat că expunerea prelungită a acestora la N_2O este urmată de apariția certă a unei leucopenii. Aceeași observație, dar prin expunere prelungită a animalelor de experiență la halotan, a comunicat Bruce și Koepke (1966).

Reluînd experiențele, Bruce, Lin și Bruce (1972) au demonstrat inhibiția celulelor hematoformatoare din măduva osoasă prin expunerea acestora în culturi celulare la acțiunea prelungită a halotanului și a N_2O. Autorii citați au demonstrat astfel că cele două anestezice acționează asupra ciclului metabolic celular. Observația ar avea o importanță mai mare în cazul folosirii acestor substanțe anestezice pentru operații de lungă și foarte lungă durată. În acest sens trebuie interpretate și rezultatele lui Humphrey, Amerson și Frederickson (1969), care atribuie variațiile numărului de leucocite în timpul intervențiilor chirurgicale interrelației dintre efectele substanțelor anestezice și modificările metabolice mediate hormonal, deci unor condiții care țin atît de durata, cît și de dificultățile tehnice și de extensia intervenției chirurgicale.

Ostergren (1944) pentru trilen și cloroform și Kieler (1957) pentru N_2O arătaseră că aceste anestezice opresc mitoza celulară în stadiul de metafază. Efecte antimitotice a raportat și Simon (1964) experimentînd cu narcotice și tranchilizante. În ceea ce privește narcotanul, anestezic foarte folosit în ultima vreme în practică și din această cauză și foarte mult cercetat Nunn, Lovis și Kimball (1971) au arătat că pe lîngă faptul că oprește diviziunea celulară în stadiul de metafază, acționează și asupra ADN sintetic și postsintetic prelungindu-i fazele de formare. Rezultatele au fost reluate și reconfirmate de Sturrock și Nunn în 1975.

Atît leucopenia, cît și diminuarea mobilizării fagocitelor în expuneri prelungite la halotan (Bruce, 1967) și la eter (Wingard și colab., 1967) ar fi urmarea unor afectări multiple a mai multor stadii din ciclul celular metabolic. Inhibiția fagocitozei și a atracției chimiotactice a fagocitelor au fost raportate și după infiltrația locală cu xilină (Cullen și Haschke, 1974).

Dar nu numai reactivitatea nespecifică este influențată de stresul anestezicochirurgical. Tot mai numeroși au fost în ultima vreme cercetătorii care au comunicat rezultate ale influenței anes-

Scanned with OKEN Scanner

teziei și intervenției chirurgicale asupra reactivității imune. Folosind testele stimulării nespecifice cu FHA (fitohemaglutinină) și la inhibiției migrării macrofagelor (MIF), Riddle (1967), Park și colab. (1971) au constatat o scădere semnificativă a capacității imune a limfocitelor T după intervențiile chirurgicale. Cochran și colab. (1972) au constatat scăderea răspunsului celular—celule T în culturi limfocitare mixte—la antigenul derivat tumoral, iar Slade și colab. (1975) au raportat rezultate asemănătoare după intervenții chirurgicale.

Espanol, Todd și Soothill (1974) constată depresiunea răspunsului limfocitelor stimulate cu FHA, imediat după începerea anesteziei, dar gradul de depresiune este proporțional cu gradul de stres chirurgical (Cullen, Van Belle, 1975).

Walton și colab. (1979) cercetează răspunsul limfocitelor T *in vitro* pe culturi celulare, la stimularea nespecifică cu FHA și remarcă faptul că gradul de depresiune a răspunsului blastic este mai mic la bolnavi bine premedicați și cu o analgezie intraoperatorie bună. Aceste concluzii vin să confirme ipoteza după care scăderea capacității imune după impactul anestezicochirurgical este dependentă de răspunsul metabolic, respectiv de extensia și durata operației, cuplată cu intensitatea reacțiilor vegetativ-endocrine și cu aplicarea unei anestezii și terapii intensive adecvate. Aceiași autori constată că la bolnavii foarte emotivi, anxioși și care prezintă dureri mari pre- și postoperatorii, răspunsul limfocitelor T la stimularea nespecifică este scăzut, deci reactivitatea imună a organismului este diminuată.

Într-o cercetare efectuată pe un lot de 33 bolnavi, care au suportat intervenții chirurgicale diferite, notate drept intervenții mari, cu o durată între 1 oră și 30 minute și 5 ore și 20 minute, la care a fost cercetată în dinamică transformarea blastică după stimularea cu FHA (preoperator și postoperator la intervale diferite) a limfocitelor periferice, am constatat o scădere semnificativă a capacității de transformare blastică (Radu și Voiculescu, 1975).

Fără a avea argumente statistice suficiente, am sugerat totuși, în concluziile cercetării noastre, că intensitatea scăderii răspunsului la stimulare cu FHA ar avea legătură cu extensia și durata intervenției. Nu am putut stabili în cercetarea noastră o legătură determinantă între scăderea răspunsului la stimularea nespecifică cu FHA și tehnicile de anestezie folosite: NLA tip II, pivot halotan și rahianestezie.

Scanned with OKEN Scanner

O corelaţie sugestivă între gradul de răspuns la stimularea limfocitelor T şi efectul metabolic de agresiune celulară au comunicat Pisciotta, Westring şi De Prey (1967). După aceşti autori, clorpromazina, substanţă antidepolarizantă şi alfablocantă, deci cu efecte protectoare celulare dacă este administrată în doze adecvate, ar avea un efect redus asupra răspunsului limfocitelor T la stimulare. Postulînd efectul posibil supresiv al anestezicelor inflamatoare asupra imunităţii celulare, determinat prin transformarea blastică după stimulare cu FHA, Park şi colab. (1971) au experimentat expunerea *in vitro* a unor suspensii de limfocite umane la o concentraţie de 2% halotan, timp de 2 ore, în afara unei traume chirurgicale. Rezultatele au arătat lipsa unui efect semnificativ, ceea ce i-a determinat pe autori să afirme că halotanul nu are efect imunosupresiv. S-a mai tras concluzia că există o reversibilitate totală după acţiunea halotanului asupra celulelor, în cazul nostru asupra limfocitelor. Rezultate similare au fost obţinute în experienţe efectuate cu adăugare de timidină tritiată în culturi limfocitare de 72 ore, supuse contactului de concentraţie de 2% halotan. Reversibilitatea acţiunii halotanului la nivel celular a fost confirmată şi de Nunn şi colab. (1971) care au expus culturi celulare la halotan timp de 20 ore apoi timp de 52 ore.

În ceea ce priveşte acţiunea anestezicelor asupra imunităţii umorale, majoritatea autorilor sînt de părere că aceasta ar fi minimă. Astfel, Viljanen şi colab. (1973), Cooper, Irvine şi Turnbull (1974), în experienţe pe animale anesteziate, constată că depresiunea numerică şi funcţională a limfocitelor B este minimă. Ei sînt de părere că stresul operator este cel ce poate determina un grad de depresiune a imunităţii umorale în perioada postoperatorie. Jones şi Lowburry (1963) au arătat că bolnavii cu arsuri, deci care au fost supuşi unui stres foarte puternic, păstrează capacitatea de a forma anticorpi.

Rezultate contrarii comunică Alexander şi Montcrieff (1967) care constată o diminuare semnificativă a numărului de celule producătoare de anticorpi la bolnavii cu arsuri. De aceeaşi părere sînt şi Cuthbertson, Tilstone şi Green (1969) care au comunicat scăderi ale titrului de anticorpi la bolnavi care au suportat diferite injurii. Wingard şi colab. (1967), Lang (1967), Slade şi colab. (1975) au notat atît reduceri ale numărului de celule splenice producătoare de anticorpi, cît şi scăderi ale titrului de imunoglobuline după intervenţii chirurgicale efectuate sub anestezie generală. Cohen (1972) constată că anticorpii preformaţi sînt în general neafectaţi după

Scanned with OKEN Scanner

intervențiile chirurgicale. Werner și Odenthal (1967) semnalează o scădere temporară a IgG.

Într-un studiu efectuat pe un lot de 50 bolnavi la care am determinat în dinamică, preoperator, precum și în a 7-a zi, și în a 14-a zi postoperator titrurile de IgG, IgM și IgA, am constatat o scădere semnificativă a titrului de IgG. Am interpretat fenomenul ca fiind datorat consumului de IgG în lipsa sintezei care este sacrificată în cadrul reacției catabolice postoperatorii. Tendința titrului IgM este de a rămîne constant. A fost notată totuși o scădere semnificativă a IgM la 2 cazuri din 50, ambele prezentînd o denutriție foarte accentuată. În aceste cazuri fracțiunea IgG fiind probabil insuficientă, s-a apelat și la IgM. Titrul IgA nu se modifică semnificativ după intervențiile chirurgicale (Radu și Voiculescu, 1977).

2.1.2.1.4. Imunosupresia postoperatorie și implicațiile sale asupra frecvenței infecțiilor postoperatorii

După Johanson și Sandford (1968), infecțiile postoperatorii ar reprezenta 15% din infecțiile intraspitalicești.

Desigur, factorii ce determină sau favorizează apariția acestor infecții sînt multipli, dar există o legătură certă între starea de imunitate deficitară preoperatorie și starea de imunosupresie postoperatorie și, în legătură cu aceasta, coincidența complicațiilor septice postoperatorii.

Dintre factorii favorizanți care țin de terenul bolnavului, se citează imunodeficiențe legate de vîrsta avansată. Davidson, Clark și Smith (1971) au arătat că bătrînii sînt mult mai susceptibili la infecții în perioada postoperatorie.

Țesutul limfoid al bătrînilor suferă o involuție care avansează odată cu vîrsta. Din punct de vedere anatomopatologic, se constată o subțiere a corticalei ganglionilor limfatici și o reducere pînă la dispariție a centrilor germinativi. Numărul de limfocite din ganglioni scade. La nivelul foliculilor splenici, limita dintre pulpă albă și pulpa roșie se șterge. Concomitent, numărul de limfocite din foliculii medulari, pulmonari și din glandele digestive cresc pe măsura înaintării în vîrstă.

Cercetări experimentale pe animale au arătat că numărul celulelor *stem*, celule originare medulare, din care provin atît limfocitele T cît și limfocitele B, nu se reduce semnificativ cu

Scanned with OKEN Scanner

vîrsta, dar capacitatea lor de diferenţiere specializată scade (Harrison şi Danbleday, 1975). Astfel, numărul limfocitelor T scade cu vîrsta, iar din punct de vedere funcţional se constată o netă diminuare a reactivităţii, care se transpune pe plan clinic printr-o scădere a capacităţii de răspuns imun. În contrast cu scăderea numărului şi capacităţii funcţionale a limfocitelor T la bătrîni, cercetătorii au constatat că dacă sub raport numeric limfocitele B formatoare de anticorpi nu par să înregistreze scăderi semnificative, sub raport funcţional, ar exista chiar o hiperreactivitate. Explicaţia ar consta în faptul că, odată cu înaintarea în vîrstă, se constată o incidenţă crescută a unor grupe de autoanticorpi antinucleari, antimitocondriali, antitireoglobină etc. (Valtuena şi colab., 1973). S-a considerat că aceşti anticorpi ar avea rol în procesul de îmbătrînire. Mai potrivit ar fi să admitem că apariţia lor se datoreşte proceselor metabolice complexe ale senectuţii.

Pe plan clinic, modificările prezentate mai sus se traduc printr-o scădere globală a funcţiei imunitare odată cu înaintarea în vîrstă, ceea ce duce la creşterea incidenţei complicaţiilor septice în perioada postoperatorie. Caracteristic pentru infecţiile postoperatorii la bătrîni este tendinţa lor la generalizare şi lipsa sau sărăcia unor manifestări clinice corespunzătoare : febră, leucocitoză, semne inflamatoare locale etc.

În aceste condiţii de scădere evidentă a capacităţii imunoreactive, scădere ce se accentuează treptat pe măsura înaintării în vîrstă, cuplată cu efectul depresor pe care-l exercită intervenţia chirurgicală, riscul infecţiilor postoperatorii la vîrstnici este foarte crescut, iar aspectele clinice pot îmbrăca forme severe.

Au mai fost citaţi printre factorii care ar favoriza apariţia complicaţiilor septice postoperatorii : obezitatea (Bruce şi Ford, 1973) şi starea de malnutriţie (Dhillon, Maclean şi Meakins, 1975). Desigur, mecanismele de afectare a resurselor imunitare sînt diferite, în primul caz fiind vorba de o tulburare metabolică ce duce la o proastă utilizare a principiilor alimentare, pe cînd în a doua situaţie este vorba de lipsa efectivă a materialului din care organismul îşi structurează mijloacele de apărare imună. În ambele cazuri, deficitele imunitare au ca verigă principală tulburări metabolice.

A fost luată în discuţie intervenţia chirurgicală prelungită ca factor favorizant al complicaţiilor septice postoperatorii. Jepsen, Larsen şi Thomsen (1969) şi Altmeier (1972) au atribuit imuno-

Scanned with OKEN Scanner

supresiei, legate de durata prelungită a intervenţiei chirugicale, un rol destul de important.

Desigur, intervenţiile chirurgicale lungi sînt însoţite de traume tisulare mai importante, dar şi de modificări hemodinamice greu de evaluat şi de compensat. Cu toată protecţia vegetativă obţinută printr-o anestezie corectă, intervenţia chirurgicală prelungită se însoţeşte de creşteri mari ale concentraţiei catecolaminelor şi corticoizilor. Autorii citaţi mai sus au insistat asupra incidenţei mai mari a complicaţiilor postoperatorii la bolnavii care suportă o intervenţie chirurgicală prelungită şi care au primit tratament cu corticoizi.

Asupra rolului imunosupresiv al diferitelor tipuri de traume, au efectuat cercetări şi alţi autori : Mandache (1960), Alexander (1968), Conolly şi colab. (1969). Toţi sînt de părere că agresiuni de diferite origini exercită un rol de scădere a rezistenţei la infecţii.

În ceea ce priveşte anestezia, s-au efectuat cercetări asupra susceptibilităţii la complicaţii septice postoperatorii, legate de diferite tehnici de anestezie. Rezultatele au fost contradictorii. Cercetări mai vechi (Snel, 1903 ; Rubin, 1904) susţineau că pacienţii expuşi la anestezice, ca eter şi cloroform, sînt mai susceptibili faţă de infecţii bacteriene şi virale. Ulterior, Brown şi Petroff (1919) au semnalat un efect protector al eterului etilic, protoxidului de azot, barbituricelor şi morfinei în tuberculoza experimentală.

Bronfenbrenner şi Weiss (1924) erau de părere că eterul ar avea un efect protector în infecţiile botulinice, iar Kaspar (1928) relata acelaşi lucru pentru tetanos. Donovan (1968) foloseşte chiar eterul etilic în tratamentul turbării. Mehta, Behr, Kenyon (1974) au demonstrat că anestezicele inhibă rata de diviziune a bacteriilor, ceea ce ar putea teoretic să reprezinte un efect benefic pentru organism în lupta antimicrobiană. Acest efect este însă de scurtă durată şi este puţin probabil ca el să aibă un rol practic important.

Au fost şi cercetători care au demonstrat un efect negativ al anestezicelor în unele infecţii, mai ales virale. Astfel, Bruce (1967), Notkins, Mergehagen şi Howard (1967), Moudgil (1973) au arătat că expunerea la halotan a şoarecilor cu diferite infecţii virale determină creşterea mortalităţii acestora faţă de lotul martor şi că este posibil ca unele infecţii virale necunoscute să producă depresiunea imunităţii specifice.

Folosirea profilactică a antibioticelor în perioada postoperatorie este considerată nerațională, inutilă, dacă nu chiar dăunătoare.

Scanned with OKEN Scanner

În ultimii ani, tot mai mulți cercetători aduc argumente împotriva folosirii profilactice a antibioterapiei postoperatorii. Astfel, experimentînd pe animale, Kreuger (1965) pentru streptomicină, iar Majeschi, McClellan și Alexander (1975) pentru tetraciclină au constatat o scădere netă a capacității imune, ultimii autori notînd și o reducere semnificativă a nivelului fagocitozei la bolnavii tratați cu antibiotice. Efectul imunosupresiv al cloramfenicolului a fost raportat încă din 1964 de către Weisberger, Daniel și Hoffman care au arătat că grefa de piele supraviețuiește mai mult după tratamentul cu cloramfenicol. (Pentru efectul imunosupresiv al antibioticelor vezi și punctul 2.1.2.2.)

2.1.2.1.5. Denutriția – circumstanță favorizantă în diminuarea capacității imunitare

Practica medicală a validat, cu mult înaintea unor cercetări sistematice, relația dintre malnutriție și rezistența scăzută la infecții, deci o capacitate imunitară diminuată.

Observațiile unui mare număr de cercetători au venit să confirme cu date experimentale și clinice această legătură.

Încă din 1930, Vint a arătat că timusul copiilor malnutriți este mai mic. Observațiile sale au fost confirmate de cercetările lui Wats (1969) și Smythe (1971). S-au mai descris modificări morfologice în timusul copiilor subnutriți, în sensul unei scăderi a numărului de celule limfatice corticale, cu reducerea grosimii stratului cortical în favoarea unei proliferări fibroase interstițiale. Modificări asemănătoare apar și la șoarecii cărora li s-a administrat cortizon. Smythe (1971) a notat și o scădere semnificativă a numărului de limfocite în ariile paracorticale ale ganglionilor limfatici (timodependente), precum și o hipertrofie a foliculilor limfatici intestinali.

Trowell (1954) a descris la bolnavii cu malnutriții diverse (kwashiorkor) o diminuare a răspunsului leucocitar în caz de infecție. Scade în mod deosebit numărul de granulocite. Discutînd posibilele cauze ale acestui fenomen, autorul citat nu a putut să precizeze dacă este vorba de un defect în metabolismul leucocitelor, de o mobilizare insuficientă sau de o diminuare datorată scăderii generale a fondului energetic și plastic al organismului. Ulterior, reluîndu-se cercetările experimentale, s-a atribut neutropenia bolnavilor cu deficit proteinocaloric unei deprimări a căii glicolitice furnizoare de energie. Yosahida și colab. (1968) au demonstrat că leucocitele provenind de la copii cu malnutriție prezintă o diminuare netă a piruvaților și lactaților.

Scanned with OKEN Scanner

Rezultatele cercetărilor privind efectul malnutriţiilor asupra imunităţii mediat-celulare sînt neconcludente. Jayalokshmi şi Gopalan (1958) şi Lloyd (1968) au raportat anergii la tuberculină pe cînd Harland (1965) a publicat experimente din care rezultau reacţii pozitive la tuberculină. Copiii cu deficite proteice prezintă o scădere a răspunsului blastic după stimulare cu FHA (Smith, 1971).

Jose şi Good (1971), experimentînd pe animale, au insistat asupra faptului că dacă răspunsul umoral (anticorpi) este cert diminuat la animale cu dietă săracă în proteine, răspunsul imun mediat-celular rămîne nemodificat şi numai privaţiuni extreme de proteine şi calorii pot să-l modifice.

Este admisă în general şi reducerea aportului de proteine, precum şi a unor principii alimentare implicate în diferite verigi metabolice, care sînt urmate de o sinteză diminuată a unor factori importanţi pentru apărarea imunitară a organismului. S-a demonstrat că în deficitele de Fe, acid folic, piridoxină şi proteine, este afectată replicarea celulară din întreg sistemul hematopoiezei. Woodruff (1971), experimentînd pe şoareci în marasm, a constatat că aceştia prezintă o limfopenie severă. Moutjar şi colab. (1965) au descris în splina şi ficatul de şobolan privat de piridoxină, o scădere a numărului de polizomi pe unitatea de greutate tisulară şi o sinteză diminuată de ARN-mesager.

Scrimshaw şi colab. (1968) au stabilit că există neîndoielnic o legătură între deficitele de proteine şi de unele vitamine (acid pantotenic, piridoxină şi vitamina A) şi capacitatea de răspuns imun. Carenţe în aceste principii duc la scăderea semnificativă a rezistenţei la infecţii microbiene. Malnutriţii sînt susceptibili la infecţii în împrejurări în care microbii nu sînt în mod obişnuit patogeni. Infecţiile cu virus Coxsackie B_3, tolerate bine de şoarecele normal, dau forme severe la şoarecele malnutrit. Woodruff (1970), care a descris această observaţie, a remarcat că asigurarea unei diete optime în timpul infecţiei, deci după declanşarea bolii, previne aceste forme severe.

Pe linia imunităţii umorale, se consideră că numai agresiunile severe sînt urmate de încetarea sintezei de imunoglobuline.

Denutriţia duce iniţial la scăderea sintezei de Ig şi numai atunci cînd gradul lipsei de aport alimentar atinge o anumită intensitate este urmată de încetarea sintezei de Ig.

Dintre Ig, cele care păstrează o rată de sinteză satisfăcătoare în cazul aportului de proteine diminuat sînt IgG.

Scanned with OKEN Scanner

Interesant de remarcat este că o dietă bogată în proteine este urmată de o sinteză foarte crescută proteică, dar sinteza IgG este puțin influențată.

În kwashiorkor complicat cu infecție s-a notat creșterea ratei de sinteză a IgG de trei ori.

Se sugerează că, în malnutriții severe, proteinele disponibile pot fi îndrumate spre sinteză de IgG (Ablet și colab., 1971). În comunități cu malnutriție endemică s-a raportat o creștere rapidă a IgM, IgG și IgA în primul an de viață. Concentrațiile acestor Ig ajung la valori apropiate de ale adultului în jurul a 12 luni de viață. Există cercetători care raportează prezența unor titruri crescute de IgA la copiii malnutriți față de cei corect alimentați, luați ca lot de control (Alvarado și Luthringer, 1971 ; Najjar și colab., 1969).

Datele experimentale și clinice privind relația dintre starea de nutriție deficitară și reducerea capacității imunitare se bazează pe observații efectuate în regiuni ale lumii pentru care malnutriția reprezintă una dintre problemele cele mai importante. În aceste țări cu malnutriție endemică, s-au făcut experimental diferite vaccinări cu rol de imunostimulare. Vaccinările au fost însă testate la unii copii sănătoși. Pentru stabilirea efectului acestor vaccinuri la copiii malnutriți, s-a propus soluția unor suplimente nutriționale în perioadele de vaccinare. Propunerea se bazează pe următoarele fapte de observație :

— stimularea antigenică, pentru a fi efectivă, necesită un suport de proteine, calorii și vitamine, fără de care sinteza de anticorpi nu este posibilă sau este foarte scăzută ;

— starea de nutriție ca și capacitatea imunologică se pot ameliora semnificativ într-o perioadă foarte scurtă de timp.

Dinamica foarte activă a proceselor metabolice face dificilă precizarea exactă a relațiilor dintre aportul alimentar scăzut și imunoreactivitatea deficitară. Deseori, bolnavi cu stare de nutriție evaluată ca precară, dar instalată într-o mai scurtă sau mai lungă perioadă de timp, pot prezenta un răspuns imun apreciat ca satisfăcător sau bun. Este neîndoielnic însă că scăderea aportului caloric și energetic constituie un factor favorizant pentru apariția infecțiilor.

La cele prezentate mai sus, mai trebuie să adăugăm și cîteva observații clinice de ordin general și anume :

— la bolnavii cu malnutriție, pereții intestinului sînt mai subțiri. Echipamentul enzimatic digestiv este diminuat, iar producția de

mucus scăzută, ceea ce face ca tubul digestiv, sediul unei flore bogate, să devină mai susceptibil la invazia microbiană. Diminuarea secreţiilor digestive duce la anorexie care agravează starea de malnutriţie;

— există obiceiul ca în timpul bolilor, de multe ori în perioada preoperatorie, să se facă unele restricţii alimentare, ceea ce accentuează şi mai mult balanţa negativă energetică şi proteică.

Organismul uman, respectînd mecanismele generale fiziopatologice, reacţionează totuşi după modele individuale stabilite în condiţiile concrete ale dezvoltării sale, fapt care nu trebuie să scape observaţiilor clinicianului. Acesta trebuie să-şi adapteze permanent mijloacele terapeutice la reactivitatea individuală a bolnavului, mai ales în perioadele perichirurgicale, perioade în care reacţia catabolică se poate cupla cu complicaţii septice care pot influenţa starea de nutriţie a bolnavului.

2.1.2.2. Imunosupresia antibiotic-indusă

Folosirea pe scară largă, raţional sau abuziv, a chimioterapiei antibacteriene a determinat nu numai o explozie informaţională în acest domeniu, dar şi apariţia unei noi patologii.

Alături de implicaţiile clinice, fiziopatologice, epidemiologice şi ecologice ale fenomenului rezistenţei bacteriilor faţă de chimioterapice, antibioterapia prezintă alte inconveniente, ca de exemplu inducerea unor stări de hipersensibilitate imediată, manifestarea în timp a unor efecte toxice cu corolarul lor — deprimarea hematopoiezei, precum şi acţiunea teratogenă.

În acest context, efectele imunosupresive ale antibioticelor antibacteriene uzuale au fost studiate relativ puţin, lucrările sistematice în acest domeniu fiind apanajul ultimilor ani şi ridicînd ele însele suficiente semne de întrebare în privinţa mecanismelor intime ale fenomenului. Această „penurie" de informaţie ştiinţifică în materie apare cu atît mai paradoxală, cu cît pentru medicul practician, inclusiv pentru chirurg sau pentru cel care aplică terapia intensivă postoperatorie, corelaţia dintre folosirea unei scheme de terapie etiologică antibacteriană adecvată şi reactivitatea imună antiinfecţioasă a organismului pacientului nu este deloc de neglijat, ci, dimpotrivă, contribuie la stabilirea unei conduite individualizate în interesul omului suferind.

Scanned with OKEN Scanner

Efectele imunosupresive ale antibioticelor pot fi considerate fie într-un sens mai larg, fie referitor exclusiv la antibioticele antibacteriene folosite curent în terapia antiinfecţioasă.

Dacă privim problema *în sens larg*, există antibiotice utilizate în mod orientat ca imunosupresive. În această categorie intră şi ciclosporina A, mitramicina sau mitomicina C, cu rol citostatic în leucemii sau cu rol imunosupresiv la nivelul celulelor limfoide timodependente în vederea prevenirii reacţiei de respingere a transplantelor. (Vezi punctul 2.3.1.3.1.) Nu vom insista mai mult asupra acestui aspect.

Relativ la *acţiunea imunosupresivă a antibioticelor antibacteriene* uzuale, datele sînt mult mai sărace cantitativ şi mai puţin tranşante sub raportul concluziilor. Aceste date pot fi grupate după metodologia folosită şi după mecanismul imunosupresiei antibiotic-induse în următoarele categorii :

2.1.2.2.1. Inhibiţia nespecifică a transformării blastice limfocitare

Există studii experimentale care atestă rolul deprimant al unor antibiotice antibacteriene asupra răspunsului blastic al limfocitelor T stimulate cu fitohemaglutinină-M, în cazul probelor incubate *in vitro* cu clindamicină, eritromicină sau rifampicină. În acest model experimental, cele 3 antibiotice menţionate, adăugate în concentraţie de 30—50 μg/ml probă, au determinat reducerea semnificativă statistic a ratei de încorporare a timidinei tritiate în limfocitele T stimulate. În unele din aceste experimente, utilizîndu-se concentraţii diferite de medicament, s-a putut stabili chiar o curbă doză-efect cu alură diferită, de la un antibiotic supresiv la altul.

În ceea ce priveşte *limfocitele B*, s-a remarcat scăderea răspunsului blastic faţă de mitogeni bacterieni (tulpina Cowan I de stafilococ auriu), în cazul tratării *in vitro* a suspensiei limfocitare cu eritromicină, clindamicină, acid sulfidic, nitrofurantoin, rifampicină, cotrimoxazol, tetraciclină şi amfotericină B.

2.1.2.2.2. Deprimarea sintezei acizilor nucleici limfocitari

Pe suspensii limfocitare purificate prin centrifugare în gradient, s-a remarcat scăderea ratei de sinteză a ADN limfocitar după tratarea *in vitro* a celulelor limfocitare B sau T cu concentraţii diferite de cefalosporine. Pe de altă parte, deprimarea sintezei de ADN sau ARN în

Scanned with OKEN Scanner

limfocitele animale periferice sau splenice a fost demonstrată în cazul tetraciclinei, clindamicinei, co-trimoxazolului, cloramfenicolului și mai ales al rifampicinei.

2.1.2.2.3. Negativarea testelor de imunitate umorală sau celulară

Prin diferite scheme de inducere a răspunsului imun *in vivo* sau *in vitro*, s-a remarcat capacitatea unor antibiotice antibacteriene de a provoca negativarea testelor de apreciere a acestui răspuns.

Privitor la *imunitatea umorală*, co-trimoxazolul s-a dovedit capabil să reducă răspunsul blastic specific al limfocitelor B *in vitro*. Rezultate similare au fost obținute și cu rifampicina. Cu ajutorul unor modele experimentale mai rafinate ca, de exemplu, prin testul de formare a plajelor hemolitice sub agar, folosind limfocite T imune față de limfocite heteroloage, s-a demonstrat efectul net imunosupresiv, în doze relativ mici, exercitat de doxiciclină, nitrofurantoin sau acid sulfidic.

Testele de *imunitate celulară* sînt, de asemenea, susceptibile de negativare, în urma tratamentului *in vivo* sau *in vitro* cu antibiotic. Această constatare este valabilă în cazul cloramfenicolului și eritromicinei prin testul de inhibiție a migrării macrofagelor și testul de transformare blastică specifică a limfocitelor B și, respectiv, în cazul rifampicinei prin testul de citotoxicitate imună a limfocitelor T. Menționăm că nitrofurantoinul și cloramfenicolul determină deprimarea acțiunii citotoxice a macrofagelor *in vitro* după stimularea șoarecilor *in vivo* cu BCG.

În pofida acestor informații, au rămas destul de multe căi neexplorate în problema imunosupresiei antibiotic-induse. Dintre întrebările care mai persistă enumerăm:

— cui se datorește deprimarea răspunsului blastic limfocitar în prezența antibioticului? inhibiției prelucrării antigenice în macrofag care precede recunoașterea de către limfocitul antigen-reactiv?; „mascării" receptorilor limfocitari de recunoaștere antigenică?; inducerii de către antibioticul imunosupresiv a unei stări de imunotoleranță față de unele antigene *non-self*?

— care este contribuția dezechilibrului limfocitelor imunomodulatoare (Th, Ts), precum și a sistemului adaptativ de celule NK, NC și celule supresoare în realizarea imunosupresiei prin antibiotice?

*

Într-o cercetare experimentală efectuată la Facultatea de medicină Craiova, disciplina Microbiologie (Conf. Dr. C. Voiculescu), în colaborare cu Spitalul Griviţa Bucureşti (Dr. N. Radu), am abordat problema efectului imunosupresiv al unor antibiotice antibacteriene de uz curent, în doze necitotoxice.

a) Ne-a preocupat în primul rînd *efectul direct limfocitotoxic* al *unor antibiotice*. În acest sens suspensii de celule splenice normale aparţinînd şoarecilor din linia genetică CBA au fost puse în contact *in vitro* cu o scară de concentraţii diferite din următoarele antibiotice: penicilină, streptomicină, eritromicină, kanamicină, tetraciclină, colistin şi cloramfenicol. În suspensiile respective s-a adăugat un mitogen nespecific pentru stimularea sintezei de ADN limfocitar şi anume fitohemaglutinina-M. Măsurînd rata de sinteză a ADN limfocitar prin încorporarea timidinei marcate cu tritiu, s-a constatat că cele şapte antibiotice testate prezintă capacităţi limfocitotoxice diferite. Cele mai puternice citotoxice s-au dovedit a fi, cum era de-altfel de aşteptat, streptomicina, tetraciclina şi cloramfenicolul, în timp ce penicilina prezenta o activitate limfocitotoxică neglijabilă. Rezultatele concordante am obţinut şi folosind un test de viabilitate celulară (excluzia albastrului tripan).

b) *Imunitatea umorală* a fost determinată pe eşantioane de celule splenice de şoareci adulţi CBA, provenite de la animale imunizate cu două antigene bursodependente şi anume: anatoxina difterică purificată sau eritrocite de berbec. Ca teste de imunitate umorală *in vitro*, s-au folosit, respectiv, transformarea blastică specifică a limfocitelor B şi formarea de plaje hemolitice sub agar. În ambele sisteme antigen-limfocite B s-a remarcat o reducere a capacităţii imune de răspuns în cazul limfocitelor B provenite de la şoareci trataţi *in vivo* cu eritromicină, colistin sau cloramfenicol. Deosebit de semnificativă este observaţia noastră că suplimentarea eşantioanelor de limfocite B cu limfocite T ajutătoare (Th) autoloage este urmată de recuperarea capacităţii de răspuns imun umoral *in vitro* în cazul celulelor provenite de la loturi tratate cu colistin sau cu cloramfenicol, dar nu în cazul celulelor aparţinînd lotului tratat *in vivo* cu eritromicină. Acest fapt sugerează că unul din mecanismele prin care eritromicina îşi exercită rolul imunosupresiv este deficitul funcţional al limfocitelor Th.

c) *Imunitatea celulară* a fost apreciată la celule splenice de şoareci CBA, imunizaţi fie cu tuberculină (PPD), fie cu virus Coxsackie

Scanned with OKEN Scanner

A9 — ambele antigene fiind capabile să inducă răspuns imun mediat celular.

În cazul în care, odată cu imunizarea *in vivo*, animalele erau tratate cu eritromicină, colistin sau cloramfenicol, răspunsul imun celular *in vitro* prezenta o reducere semnificativă statistic, testată prin doi indicatori și anume : inhibiția migrării macrofagelor și transformarea blastică specifică a limfocitelor T.

d) În ceea ce privește *populațiile și subpopulațiile de limfocite splenice*, cercetarea noastră a constatat următoarele :

— nici o modificare a proporției de limfocite T și B totale între loturile imunizate, netratate sau tratate *in vivo* cu antibiotice ;

— scăderea semnificativă a proporției de limfocite T ajutătoare (Th) la lotul imunizat, tratat *in vivo* cu eritromicină, ceea ce susține constatarea anterioară cu privire la deficitul Th în explicarea acțiunii imunosupresive a acestui antibiotic ;

— scăderea activității celulelor NC (natural-citotoxice), asupra unor celule-țintă în cazul lotului tratat *in vivo* cu cloramfenicol, precum și o potențare a activității inhibitoare a celulelor T supresoare asupra activității NC la celulele aceluiași lot ;

— reducerea activității NC la celulele splenice normale tratate *in vitro* cu eritromicină, colistin sau cloramfenicol. La această constatare adăugăm că suplimentarea eșantioanelor de celule NC cu limfocite T supresoare (Ts), este urmată de accentuarea efectului imunosupresiv al antibioticului în cazul probei incubate *in vitro* cu cloramfenicol, ceea ce sugerează intervenția probabilă a acestui chimioterapic în activarea celulelor Ts.

Toate aceste date ne-au permis să imaginăm un model ipotetic privind diferitele mecanisme prin care antibioticele antibacteriene pot să-și exercite efectele lor imunosupresive. Din acest punct de vedere se pot cristaliza următoarele mecanisme :

— limfocitotoxicitate directă : streptomicina, tetraciclina, cloramfenicolul ;

— fixarea competitivă pe receptorii limfocitelor antigen-reactive : eritromicina, colistinul, cloramfenicolul ;

— deficitul numeric și funcțional al celulelor Th : eritromicina ;

— potențarea activității inhibitoare a limfocitelor Ts : cloramfenicolul ;

— mascarea receptorilor celulelor NC cu împiedicarea recunoașterii celulei-țintă : cloramfenicolul, eritromicina, colistinul.

Scanned with OKEN Scanner

Din aceste cercetări rezultă o serie de concluzii importante pentru medicul practician, inclusiv pentru tratamentul „de protecţie" cu antibiotice efectuat curent postoperator. Subliniem îndeosebi efectele supresive ale eritromicinei, cloramfenicolului şi colistinului asupra imunităţii umorale sau celulare antiinfecţioase. În cazul aplicării chimioterapiei antibacteriene postoperatorii se poate obţine un efect paradoxal, în sensul că nu se împiedică o eventuală infecţie supraadăugată, ci aceasta poate fi chiar favorizată prin coborîrea sub limite fiziologice a capacităţii de apărare specifică antiinfecţioasă a organismului. De o şi mai mare importanţă apare ultimul mecanism, acela al impactului dintre unele antibiotice antibacteriene imunosupresive şi activitatea celulelor NC. După cum se ştie, bariera de celule NK şi, respectiv, NC reprezintă cel mai eficient mijloc precoce în limitarea procesului de proliferare tumorală (vezi punctul 2. 4. 2. 4). Ori aplicînd chimioterapia antibacteriană în mod neindividualizat după extirparea chirurgicală a unei tumori, se poate presupune ca posibilă, dacă nu chiar probabilă, instalarea inhibiţiei activităţii celulelor natural-citotoxice care să favorizeze difuziunea procesului malign. Din cele de mai sus, reiese odată mai mult necesitatea aplicării unor scheme bine particularizate în tratamentul antiinfecţios după intervenţiile chirurgicale.

2.1.2.3. Imunosupresia legată de administrarea postoperatorie a citostaticelor sau de radiumterapie

După intervenţiile de exereză a tumorilor sau de explorare operatorie în cancerele generalizate, conduita uzuală a administrării de citostatice trebuie să ţină seama de acţiunea imunosupresivă exercitată de citostatice sau de Rx-terapie, în sensul asigurării pe cît posibil a deziderатului stăvilirii proliferării de tip malign, fără a „sidera" capacitatea de apărare imună a organismului, şi aşa precară în boala canceroasă.

Dintre citostaticele cu acţiune imunosupresivă puternică, demonstrată experimental şi clinic, asupra imunităţii umorale şi mediate celular, menţionăm îndeosebi : *tiopurinele* (6-mercaptopurina, azatioprina), *agenţii alchilanţi* (ciclofosfamida, clorambucilul) şi altele (vincristina, 5-fluorouracilul, dexorubicina şi chiar metotrexatul în doze mari). Aceste droguri determină o stare de imunosupresie bifazică, caracterizată într-o primă etapă prin limfopenie şi neutropenie

şi într-o a doua etapă prin negativarea testelor de imunitate umorală sau celulară *in vitro* la antigene standard *(pokeweed,* tuberculină etc.). Fenitoina produce scăderea imunităţii celulare şi a titrului seric de IgA.

Pe de altă parte, dar în acelaşi context, menţionăm deprimarea notabilă a capacităţii de răspuns imun după expunerea locală la raze X, o doză mai mare de 5 000 R fiind urmată de o diminuare a imunoreactivităţii celulare de lungă durată, evidenţiată mai frecvent în cazul aplicării iradierii în regiunea toracelui decît în regiunea abdominală sau pelvină.

2.1.2.4. Imunosupresia provocată de infecţiile postoperatorii

Din acest punct de vedere, interesează mai ales supuraţiile trenante ale unor plăgi postoperatorii, care pot greva capacitatea imunoreactivă. Astfel, s-a demonstrat experimental că produşii de degradare a germenilor, resorbiţi de la nivelul plăgii, în cazul cocilor patogeni (stafilococi, enterococi), induc în organism sinteza unui factor seric care inhibă apărarea specifică, cu precădere antivirală, pe linie umorală şi celulară, ceea ce explică frecvenţa mare, statistic semnificativă, a virozelor respiratorii sau digestive sezoniere, precum şi a herpesului recurent la asemenea pacienţi. Un alt mecanism postulat pentru explicarea imunodepresiei la aceste cazuri este mobilizarea în circulaţia generală a leucocitelor (granulocite neutrofile, macrofage, limfocite) soldată cu o penurie pasageră de bagaj celular la locul de conflict cu diverse antigene bacteriene şi virale, cu diminuarea procesului de fagocitoză, de prelucrare a antigenului şi, în mai mică măsură, de recunoaştere a acestuia în vederea declanşării transformării blastice limfocitare.

O altă categorie de germeni bacterieni implicaţi în etiologia supuraţiilor plăgilor postoperatorii (Proteus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa) pot, prin endotoxinele lor, resorbite în umori, în anumite momente şi în concentraţii relativ mai mari, să exercite efecte imunosupresive, ceea ce apare oarecum paradoxal, ştiut fiind că lipopolizaharizii enterobacterieni sînt imunoadjuvanţi puternici. Rolul imunoadjuvant se manifestă însă în concentraţii reduse, situaţia infecţiilor de la nivelul plăgii cu multiplicare activă a germenilor realizînd, de regulă, stări de imunosupresie prin resorbţie continuă de endotoxine bacteriene.

Scanned with OKEN Scanner

2.2. Transfuzia de sînge și reacțiile posttransfuzionale

2.2.1. Sisteme de antigene eritrocitare

2.2.1.1. Sistemul ABO

2.2.1.1.1. Caracteristici

Sistemul ABO prezintă două caracteristici fundamentale neîntîlnite la alte sisteme de grupe sanguine:

— prezența în ser a unor aglutinine capabile să reacționeze puternic cu antigene corespunzătoare care nu se găsesc în serul aceluiași individ;

— prezența constantă a antigenelor AB pe suprafața majorității celulelor din țesuturi și respectiv a produșilor AB în secrețiile externe ale tuturor indivizilor aparținînd aceluiași grup.

Aceste două caracteristici determină ca sistemul ABO să fie cel mai important sistem de antigene eritrocitare, din punctul de vedere al transfuziei de sînge și al transplantelor de organe.

Prezența constantă a aglutininelor anti-A și/sau anti-B în serul donatorului are mai puțină importanță decît prezența antigenelor A și/sau B pe eritrocitele donatorului:

Grup sanguin	Aglutinine serice	Antigene prezente pe suprafața diferitelor celule (uneori prezente și ca substanțe solubile în secreții)
O	anti-A, anti-B	O
A	anti-B	A
B	anti-A	B
AB	—	A, B

2.2.1.1.2. Anticorpi și aglutinine

Anticorpii umani anti-A și anti-B sînt ușor de decelat, deși există și la animale și chiar la unele plante unele aglutinine care au servit la studiul sistemului ABO.

Anticorpii umani din sistemul ABO pot fi împărțiți în două mari categorii : naturali și imuni. Ambele tipuri reprezintă rezultatul unei imunizări. Aglutininele de tip natural se datoresc probabil unor imunizări oculte cu imunogene bacteriene provenite din anturajul ecologic natural al organismului. Acest lucru este demonstrat prin faptul că anticorpii anti-A sau anti-B se găsesc în titru scăzut la copii și că ei lipsesc la animalele lipsite de germeni (*germ-free*).

Anticorpii *naturali* anti-A sau anti-B aparțin de regulă clasei IgM și sînt ușor neutralizabili de către determinanții solubili A sau B.

Aglutininele naturale anti-A și anti-B prezente la persoanele din grupul O fac parte de obicei din clasa IgG și sînt mai greu neutralizabile de către determinanții antigenici A și B.

Cînd serul provenit de la indivizii de grup O este adsorbit cu celule de grup A sau B, eluatul obținut nu mai conține anticorpi anti-A și anti-B, în titru decelabil prin tehnicile uzuale.

Pe de altă parte, serul de grup O reacționează numai uneori cu antigenele subgrupelor A(Ax), putînd fi nonreactiv cu serul anti-antigen A total.

Au fost propuse diverse teorii pentru a explica aceste constatări, dar nici una nu este unanim acceptată.

Anticorpii anti-A sau anti-B *imuni* aparțin clasei IgG și sînt de regulă rezultatul unei imunizări în timpul unei hemoragii materno-fetale. Astfel, administrarea unor produse de grup sanguin A sau B este urmată de creșterea titrului de anticorpi anti-A sau anti-B. Indivizii anti-A_1 reacționează cu celulele A_1, dar nu cu celulele A_2. Anticorpii pot deriva din serul uman anti-A adsorbit cu celule A_2 sau de la persoane din grupele A_2, B sau Ax care conțin aglutinine serice anti-A_1.

Serurile indivizilor care conțin anticorpi anti-H aglutinează puternic cu celulele provenite de la indivizii de grup O. Reacția respectivă este mai slabă în prezența celulelor A_2 sau A_3 și foarte slabă, chiar neglijabilă, în prezența celulelor A_1 sau A_1B. Acești anticorpi pot fi neutralizați de către determinantul H. Anticorpii anti-H prezenți în serul persoanelor cu fenotip Oh (Bombay) aglutinează normal

Scanned with OKEN Scanner

sau chiar hemolizează uneori celulele O, în timp ce anticorpii prezenți la persoanele non-Oh au acțiune slabă și nehemolitică.

În continuare, prezentăm cele mai importante categorii de anticorpi din sistemul ABO, precum și aglutininele respective :

Specificitate	Grup	Ser		Alte surse
		Incidență	Caracteristici	
Anti-B	A	100 %	De regulă ; IgM Titru : 1/8—1/512 (media : 1/64)	Colostru (IgA) Salivă (IgA) Lacrimi Lichid ascită
Anti-A, B	O, Oh	100 %	De regulă, IgG Reacționează cu A_x, A_3	
Anti-A	B	100 %	De regulă ; IgM Titru : 1/32—1/2048 (media : 1/256)	
Anti-A_1	A_2B A_2 A_x	22—35 % 1—8 % Majoritatea	Puține cazuri de reacții posttransfuzionale raportate	Ser anti-A adsorbit cu celule A_2
Anti-H	Oh Negativi Oh	100 % Unele cazuri	Inhibiție de către substanța H	

2.2.1.1.3. Antigene ABO comune

Deși au fost descrise numeroase variante ale antigenelor ABO, numai variantele A_1, A_2 și B au importanță practică deosebită. Variantele A_3, A_m, A_x, B_3 și Oh se întîlnesc ocazional, în timp ce alte subgrupe sînt rarisime.

Din punct de vedere genetic, sistemul ABO face parte din complexul major de histocompatibilitate HL—A (vezi punctul 2.3.1).

Sistemul ABO este controlat de cel puțin trei seturi de gene : H-h ; A_1-A_2-B-O ; Se-se. Fiecare set este independent față de celelalte. Se poate presupune că un anume set aparține unui locus propriu. Locusul ABO a fost localizat pe cromozomul uman nr. 9, celelalte rămînînd nedeterminate topografic.

Scanned with OKEN Scanner

Produsul genei H este sucroziltransferaza, care catalizează conversia unei substanţe-precursor în substanţă H propriu-zisă. În absenţa genei H (situaţie desemnată convenţional hh), substanţa-precursor rămîne nemodificată şi rezultă tipul Oh (Bombay). În acest caz, deşi genele ABO sînt prezente, antigenul A sau B nu se va forma, deoarece substanţa H — precursorul antigenelor A şi B — este absentă. Există cel puţin două grupe de antigene ABH: glicoproteinele solubile din secreţiile externe şi plasmă, pe de o parte, şi lipoproteinele structurale legate de membrana eritrocitară, precum şi de celulele epiteliale sau endoteliale, pe de altă parte. Ambele grupe prezintă aceeaşi specificitate în ceea ce priveşte reacţiile cu anticorpii anti-A, anti-B sau anti-H. Antigenele solubile ABH pot fi identificate în secreţiile externe la aproximativ 80% din populaţie, indivizii purtători fiind denumiţi *secretori*. Starea de *secretor* este controlată de către o pereche de gene Se şi se. În absenţa genei Se (se/se) antigenele ABH nu sînt prezente în secreţii şi indivizii respectivi se numesc *nonsecretori*.

Deoarece antigenele ABH şi antigenele Lewis provin dintr-un precursor comun, nu este surpinzător că gena Lewis (Le/le) se corelează cu sinteza antigenelor ABH. Secretorii ABH pot fi de tipul Le (a−/b+) sau Le (a+/b+), în timp ce nonsecretorii ABH sînt Le (a+/b−) sau Le (a−/b−). În absenţa genei H, antigenul Le^b sau determinantul solubil corespunzător nu se mai formează. Această ipoteză este susţinută de faptul că indivizii Le (a−/b+) nu aparţin niciodată fenotipului Bombay (Oh). Notabil este faptul că deşi antigenele ABH pot fi detectate pe suprafaţa eritrocitelor chiar la fătul de 6 săptămîni, ele nu se exprimă pînă la vîrsta de 6—18 luni după naştere. Un copil care iniţial a aparţinut tipului A_2, poate mai tîrziu să devină de tip A_1.

Referitor la distribuţie, antigenele ABH sînt prezente nu numai la unele bacterii, ci şi la unele animale. De pildă, celulele de porc A^p au fost folosite pentru a diferenţia anticorpii anti-A *imuni* de cei *naturali*, în sensul că numai aglutininele imune anti-A sînt adsorbite cu uşurinţă de către celulele A^p. În afară de salivă, substanţele ABH pot fi decelate de asemenea în secreţiile tractului intestinal superior, lichidul chistului ovarian, lichidul seminal şi lichidul amniotic. Cu tehnica de aderenţă celulară specifică, antigenele ABH pot fi depistate pe suprafaţa unor celule epiteliale, ca şi pe cea a unor celule endoteliale de la nivelul vaselor sanguine. A fost de asemenea

Scanned with OKEN Scanner

semnalată prezența antigenelor ABH la suprafața leucocitelor, precum și a plachetelor sanguine, dar în acest domeniu există încă unele controverse.

2.2.1.1.4. Gruparea indivizilor umani în cadrul sistemului ABO

Determinarea de rutină a antigenelor ABO se efectuează curent. Se procedează prin punerea în contact a eritrocitelor aparținînd individului de testat cu seruri standard ce conțin aglutinine anti-A sau anti-B (pentru amănunte privind principiile de determinare a grupelor sanguine, vezi punctul 2.2.2.). În ceea ce privește determinarea anticorpilor serici față de antigenele din sistemul ABO, se folosesc celule normale test aparținînd grupelor A_1, B sau O. Celulele O servesc ca martor pentru decelarea unor eventuali anticorpi „parazitari". Celulele A_2 sînt folosite cînd se suspectează prezența aglutininelor anti-A.

Prezentăm în continuare un tablou sintetic asupra tipizării de rutină a eritrocitelor umane în sistemul ABO :

Celule anti-ser conținînd :		Ser anti-celule din grupul :			Interpretare	Frecvență % în populația umană
Antigen-A	Antigen-B	A	B	O		
—	—	+	+	—	O	45
+	—	—	+	—	A	40
—	+	+	—	—	B	11
+	+	—	—	—	AB	4

Pe lîngă testele uzuale de aglutinare, determinarea prezenței acetil-galactozaminiltransferazei, galactoziltransferazei sau fucoziltransferazei este foarte importantă pentru confirmarea prezenței genelor A, B și H.

2.2.1.1.5. Discrepanțe în determinarea grupelor sanguine din sistemul ABO

a) *Reacțiile neașteptate sau adiționale în determinarea antigenelor ABH* pot fi, după cum urmează :

— celule modificate prin enzime bacteriene ca, de exemplu, la indivizii cu antigen B împrumutat de la bacterii ;

Scanned with OKEN Scanner

— o anomalie genetică de tip CIS-AB. Celulele aparţin grupului AB, paralel cu existenţa unei componente anti-B în serul autolog;

— celule modificate prin substanţe chimice, ca de pildă prin acidul hialuronic. Celulele aglutinează nespecific. Agregatele se dispersează după adăugarea de hialuronidază, deci după eliminarea inconvenientului;

— o populaţie minoritară de celule provenite de la un geamăn „chimeric" sau datorată unei transfuzii recente de heterogrup;

— celule acoperite cu anticorpi, formare consecutivă de agregate în prezenţa unui mediu cu concentraţie mare de proteine;

— diferite tipuri de celule poliaglutinabile.

b) *Reacţiile adiţionale sau neaşteptate în determinarea aglutininelor serice din sistemul ABO* pot fi următoarele:

— prezenţa autoaglutininelor, care reacţionează la temperatura camerei sau la temperaturi scăzute;

— prezenţa de aloanticorpi, ca de exemplu, anticorpi anti-A_1, anti-H, anti-I, anti-M, anti-Le^a, anti-P_1 şi a altor anticorpi care acţionează heterolog la temperatura camerei;

— prezenţa unei concentraţii înalte de polimeri, ca de exemplu, de gamaglobuline, fibrinogen, dextran sau polivinil-piralidonă în serul de testat, care poate să ducă la formarea de false aglutinate şi, respectiv, să greveze corectitudinea rezultatelor;

— prezenţa de anticorpi cu specificitate pentru lactoză ori antibiotice (neomicină sau cloramfenicol), care pot fi prezenţi în soluţia de conservare a eritrocitelor-test, sau anticorpi anticaprilat, substanţă folosită ca stabilizator în preparatele de albumină bovină, sau anticorpi faţă de acriflavină (colorant utilizat frecvent în preparatele standard pentru determinarea anticorpilor anti-B).

c) *Reacţiile slabe sau absente în determinarea de grup* sînt:

— unele variante din subgrupele A sau B pot da reacţii absente sau cu aglutinare slabă specifică;

— antigenele slabe, ca de exemplu Ag sau Bg, în unele stări de boală (leucemie);

— concentraţii înalte de determinanţi solubili A sau B, în serurile bolnavilor cu adenocarcinom gastric. Aceste substanţe pot neutraliza serul de tip, producînd false reacţii negative sau reacţii specifice foarte slabe.

Scanned with OKEN Scanner

d) *Aglutinine absente sau cu titru slab* pot fi întîlnite în următoarele situații :

— hipogamaglobulinemii sau agamaglobulinemii.

— titruri joase sau absente de *izoaglutinine* la copiii sub 6 luni sau, uneori, și peste această vîrstă.

2.2.1.2. Sistemul Rh

2.2.1.2.1. Sistemul Rh de bază

Sistemul Rh este cel mai prolix sistem de antigene eritrocitare, legat de complexul major de histocompatibilitate. Se știe că aproximativ 85% din indivizii umani ai zonelor temperate sînt Rh pozitivi (adică prezintă un antigen comun cu al maimuțelor Rhesus), iar 15% sînt Rh negativi. Problema are implicații, mai ales în conflictul imun care se poate stabili între un făt Rh pozitiv și o mamă Rh negativă, cu apariția de anticorpi materni care, traversînd bariera placentară, produc boala hemolitică a noului născut sau icterul nuclear.

În ceea ce privește bazele genetice ale sistemului Rh, s-a stabilit existența unor subantigene Rh numite D, C, E, c,e. Antigenele C și c, precum și antigenele E și e sînt *antitetice*. Anticorpii orientați către antigenul antitetic antigenului D nu au fost încă identificați. Termenul de „antitetic" indică faptul că două antigene sînt controlate de către o pereche de gene alelice. Astfel, o persoană poate fi $\frac{C}{C}$ sau $\frac{c}{c}$. O condiție similară se realizează pentru genele E și e. Printr-o convenție de exprimare, gena alelică pentru D a fost desemnată cu „d". Astfel, în vederea evidențierii serologice, sistemul Rh poate fi imaginat ca un edificiu de gene conținînd trei loci.

Din studiile asupra unor familii, ca și în general pe un număr mare de indivizi din populația umană aparținînd unei anumite zone geografice, s-a demonstrat că acești trei loci sînt foarte strîns legați topografic și funcțional și că ei se moștenesc ca o unitate genetică complexă. Nu s-a observat în cadrul acestor trei loci fenomenul de *crossing-over*. Există, este adevărat, o teorie care presupune existența unui singur locus, dar cei mai mulți autori consideră că este vorba de trei loci.

Factorii serologici sau de expresie antigenică au fost denumiți Rh_0, Rh′, Rh″, hR′ și hR″ corespunzînd, respectiv, antigenelor D, C, E, c și e.

Pentru a oglindi corelaţia dintre diversele modalităţi de expresie serologică a unei gene, s-a utilizat termenul de aglutinogen: de pildă, aglutinogenul Rh_0 pentru complexul triplu antigenic Rh_0, Rh′ şi Rh″ sau aglutinogenul rh pentru complexul format din două antigene hR′, hR″. Deoarece numărul de antigene Rh este în creştere, notaţia în ordine alfabetică nu se mai practică astăzi. Astfel Rosenhielt propune un sistem numeric Rh1, Rh2, Rh3, Rh4 şi Rh5, pentru a reprezenta cele cinci antigene de bază.

Cu ajutorul a cinci seruri de tip (standard), este posibilă decelarea a 8 complexe antigenice sau aglutinogene. Fiecare dintre acestea este desemnat ca un complex de gene sau un haplotip.

2.2.1.2.2. Antigene Rh

a) *Antigenul Rh_0 şi subunităţile sale.* Antigenul Rh_0 a fost stabilit prin observaţii clinice riguroase la om şi prin experimente pe animale. Primul ser standard anti-Rh_0 a fost obţinut la iepuri prin injectarea de eritrocite de maimuţă Rhesus. Cu acest ser standard s-au stabilit proporţiile de indivizi cu Rh pozitiv şi Rh negativ. În afară de antigenele A şi B, antigenul Rh_0 (D) este cel mai puternic antigen eritrocitar uman.

Aproximativ două treimi din indivizii Rh_0(D)-negativi, care primesc sînge cu eritrocite Rh_0(D)-pozitive, dezvoltă anticorpi anti-Rh_0(D). Din această cauză, atît donatorii cît şi primitorii de sînge trebuie să fie tipizaţi pentru prezenţa antigenului Rh_0(D), pe lîngă prezenţa antigenelor A şi B din sistemul ABO. Există şi antigene Rh_0(D) incomplete.

Un tip particular de antigen D se numeşte D″ şi se datoreşte prezenţei unei gene C în poziţia trans pe cromozomul opus din formula de genotip $\frac{Dce}{dCe}$. Aceste persoane poartă numele de D^u, iar subtipul de antigen Rh corespunzător se găseşte foarte frecvent la populaţia neagră.

Al doilea subtip de antigen D, tot incomplet, este format, de fapt, dintr-un mozaic de cel puţin 4 subunităţi denumite Rh^A, Rh^B, Rh^C şi Rh^D. Cînd una sau mai multe din aceste subunităţi lipsesc, antigenul D reacţionează ca D^u.

Există, în sfîrşit, şi indivizi care nu aparţin nici uneia dintre cele două categorii menţionate şi care sînt denumiţi D^u, S.

Scanned with OKEN Scanner

b) *Antigenele C/c și E/e.* O persoană poate aparține unuia din tipurile antigenice C+/c+, C−/c+ sau C+/c−. Relații similare sînt constatate și în cazul antigenelor E și e. Rareori complexul de gene D+/C− realizează absența pe eritrocit a antigenelor E și e. Deoarece DCe și DcE sînt fenotipuri comune, apar frecvent anticorpi comuni anti-CE și anti-Ce la persoane aparținînd unui fenotip opus.

În practică, anticorpii anti-e și anti-C sînt de regulă cu titrn slab și greu de demonstrat prin testele serologice uzuale. Se poate presupune că genele care controlează antigenul E și antigenul e sînt corelate cu genele care controlează antigenele C și c și mai puțin cu gena care codifică antigenul D. Deci, expresia logică a complexului de gene în acest caz va fi DCE în loc de CDE. La mai puțin de 1% din populația albă a zonelor temperate, între indivizii care prezintă antigene alternante pentru C și c, se găsesc unii purtători de antigene C^w. Din această fracțiune de populație C^w+, se distinge o proporție mult mai mică, la care antigenul C lipsește complet pe eritrocite.

Antigenul G, deseori asociat atît cu antigenele D cît și cu antigenele C, nu este un complex DC. Unele persoane cu antigen D sau C prezent pot să nu prezinte antigen G, după cum alți indivizi prezintă antigen G fără asociere de antigene D sau C. Acest ultim fenotip poartă numele de r^G.

c) *Sindromul Rh nul.* S-a remarcat că unele persoane la care eritrocitele sînt complet lipsite de antigene Rh prezintă o fragilitate globulară marcată, așa-numitele *stomatocite*, cu o durată de supraviețuire eritrocitară scurtă. La aceste persoane, anticorpii anti-Rh, cu diferite specificități (anti-C, anti-e etc.), pot fi prezenți în serul respectiv.

Există diferite căi genetice de blocare a biosintezei antigenelor Rh la persoanele cu eritrocite Rh nule. De regulă, se impune intervenția unei gene reglatoare pentru a comanda conversia substanței I în substanță II și, de asemenea, prezența unui complex genetic DCE pentru conversia substanței II în formă definitivă de antigene DCE. În absența genei reglatoare X′ nu se produce substanța II și astfel complexul antigenic DCE nu se mai formează, deși gena structurală DCE există în genomul celulei respective (sinteza antigenică „abortivă").

d) *Antigenul LW*. Există date numeroase indicînd faptul că serul de iepure anti-Rh_0 (D) nu este identic cu serul care conține anticorpi omologi umani. Cu tehnici foarte discriminate, s-a observat că anticorpii orientați spre eritrocitele maimuțelor Rhesus reacționează atît cu celulele D+ cît și cu celule D—, în timp ce serurile umane cu aceeași specificitate reacționează puternic cu celulele D+ și slab cu celulele D—. În acest fel, extinzînd cercetările pe familii mai numeroase, s-a remarcat posibilitatea decelării unui alt antigen legat de sistemul Rh, similar cu antigenul Rhesus propriu-zis, denumit convențional LW. Bineînțeles că toți indivizii cu eritrocite Rh nule sînt și LW negativi. Au fost decelați anticorpi anti-LW la persoanele LW+. S-a observat și o formă de tranziție la unii indivizi LW. Există și dovezi care indică înrudirea între antigenul LW și antigenul D, iar altele atestă că antigenul LW ar conține mai multe subunități.

2.2.1.2.3. Gruparea indivizilor umani în sistemul Rh

Tipizarea de rutină a indivizilor pentru gruparea lor în Rh (D)+ și respectiv Rh(D)— se face prin aglutinarea eritrocitelor donatorilor și receptorilor de sînge în prezența unor seruri test care conțin, în mod sigur, anticorpi anti-Rh.

Sînt notate și unele reacții slabe sau ambigue, ceea ce reclamă folosirea unor ingrediente foarte bine controlate în prealabil, precum și o interpretare diferențiată. Pentru a determina un anume genotip Rh sau dacă există cantități mici de anticorpi anti-Rh, se impune folosirea adițională a altor seruri de tip și, respectiv, a altor antigene, cum ar fi antigenele C, c, E și e sau a serurilor corespondente.

Este foarte important de reținut că antiserurile Rh, în majoritatea lor, reacționează mai puternic în prezența unui mediu bogat în proteine sau enzime sau dacă se realizează testul antiglobulinic. De aceea, fiecare ser necesar tipizării Rh se va utiliza urmînd cu strictețe instrucțiunile care însoțesc fiola respectivă.

2.2.1.3. Alte sisteme de antigene eritrocitare

Fără a intra în amănunte, menționăm și alte cîteva sisteme legate mai ales de sistemul ABH sau de alte antigene de histocompatibilitate: sistemul Lewis; sistemul antigenelor I și i; sistemul P; sistemul MNS; sistemul „luteran"; sistemul Kell; sistemul Duffy; sistemul Kidd.

Scanned with OKEN Scanner

2.2.2. Principii metodologice pentru determinarea antigenelor eritrocitare

În vederea stabilirii grupului sanguin, deci a atestării compatibilității de grup, înainte de aplicarea unei transfuzii de sînge se efectuează o reacție de aglutinare între sîngele donatorului sau receptorului, pe de o parte, și unele seruri test de tip, pe de altă parte, în diferite sisteme de antigene eritrocitare. Deși există foarte multe variante tehnice, fiecare dintre acestea trebuie să țină seama de cîteva principii generale. Dintre acestea menționăm :

— folosirea unor recipiente foarte curate, constituite dintr-un material corespunzător, cum ar fi polistirenul ;

— reagenții (în special serul de tip) trebuie să fie foarte bine controlați ;

— suspensia eritrocitară test trebuie să aibă o concentrație bine determinată (2—5 %) ;

— asigurarea unui timp de incubație optim (4°C, 24° C, 37°C), în funcție de tehnică ;

— pentru a facilita rapiditatea reacției, eritrocitele trebuie tratate uneori cu enzime (papaină sau tripsină) ;

— folosirea unui mediu bogat în proteine (în special pentru determinarea antigenelor Rh, se utilizează mediu cu albumină bovină) ;

— asigurarea unei concentrații ionice mai scăzute în soluțiile de diluție a reagenților ;

— centrifugarea corectă (atunci cînd tehnica respectivă o impune) ;

— citirea corectă a rezultatelor.

De regulă rezultatele se citesc astfel : H = hemoliză cu prezență de hemoglobină liberă ; $4+$ = un singur agregat solid ; $3+$ = un singur agregat solid și numeroase microagregate ; $2+$ = microagregate cu mediu clar în jur ; $1+$ = microagregate cu mediu tulbure în jur.

Există și o altă notație, după cum urmează : $+W$ = prezență de agregate celulare ; $-W$ = absență de agregate celulare ; M = prezență de agregate minore ; R = fișicuri sau rulouri care dispar după spălare.

Menționăm că în ultimii ani, în laboratoarele mari și centrele de sînge, cîștigă foarte mult teren sistemele automate de determi-

Scanned with OKEN Scanner

nare a antigenelor din sistemul ABO sau din sistemul Rh. Pe de altă parte, în vederea unui studiu genetic complex, este necesară și determinarea anticorpilor anti-A sau anti-B în sistemul ABO, respectiv a anticorpilor anti-Rh în sistemul Rh, ceea ce impune folosirea celulelor-test, deci a antigenelor standard.

În cazul în care se urmărește determinarea prezenței sau chiar a titrului de anticorpi, sînt necesare tehnici discriminative.

2.2.3. Reacții posttransfuzionale de incompatibilitate de grup sanguin

Reacțiile de incompatibilitate față de transfuziile cu sînge heterogrup reprezintă cea mai veche manifestare de conflict imunologic. Dealtfel, de cînd Landsteiner a descoperit grupele sanguine, accidentele posttransfuzionale au fost din ce în ce mai rare, odată cu contraindicarea strictă a transfuziei de sînge de heterogrup.

Din punct de vedere clinic, transfuzia de sînge cu eritrocite de heterogrup se manifestă printr-o reacție hemolitică violentă, datorată distrucției rapide a eritrocitelor donatorului sau receptorului. Exemplul clasic ce se și recunoaște cel mai ușor clinic este cel în care are loc distrucția masivă a eritrocitelor donatorului în urma acțiunii aloanticorpilor din plasma receptorului.

Există și cazuri în care această distrucție eritrocitară este mai redusă, traducîndu-se printr-o simptomatologie mai ștearsă. În alte împrejurări, distrucția accelerată a eritrocitelor donatorului se poate produce mai tîrziu, după 7—10 zile de la transfuzie (dacă este vorba de o primă aloimunizare a receptorului). În această situație, este nevoie de o perioadă de lag de 3—5 zile pentru a se dezvolta un răspuns imun prin anticorpi antieritrocitari.

Tabloul clinic al reacției hemolitice acute după transfuzie de heterogrup este foarte bine cunoscut. El se traduce la început prin disconfort general și stare confuzională chiar în timpul transfuziei. Această stare de disconfort se accentuează, apoi apar dureri ale extremităților și la nivelul coloanei vertebrale (în special în zona cervicală), stare de sufocare, sete de aer și o senzație de constricție toracică, urmată de tahicardie, scăderea tensiunii arteriale și chiar șoc (în unele cazuri severe). Hipotermia se poate instala și ea inițial, uneori însă apare febra. Se pot întîlni și tulburări ale diurezei, respectiv

oligurie, uneori chiar anurie. Investigarea promptă și adecvată a bolnavilor pentru atestarea unei transfuzii cu sînge heterogrup are o importanță practică cu totul deosebită. Este necesar să se identifice dacă a avut loc sau nu procesul de *hemoglobinemie*, ca indicator al unei distrucții rapide a sîngelui *in vivo*. În acest scop, o probă de sînge se recoltează cu grijă din altă venă decît aceea unde s-a făcut transfuzia. Proba de sînge se recoltează pe un anticoagulant (EDTA, oxalat de potasiu și amoniu). Proba se centrifughează rapid și plasma este examinată pentru prezența hemoglobinei, luînd ca etalon o soluție de hemoglobină standard. Valorile ridicate ale hemoglobinei se întîlnesc frecvent în cazul transfuziei cu sînge heterogrup. Pe de altă parte hemoglobinuria poate să fie prezentă sau nu, depinzînd de nivelul hemoglobinei plasmatice. De asemenea, se pot nota valori ridicate ale bilirubinemiei. Merită menționat faptul că nici hiperbilirubinemia, nici hemoglobinuria nu au valoarea peremptorie pe care o prezintă demonstrarea unui titru de hemoglobină ridicat în plasmă în diagnosticul unei reacții hemolitice posttransfuzionale.

Se mai pot întîlni și alte semne ca : trombocitopenie și purpură, asociate cu modificarea testelor de coagulare. Subliniem că alterarea acestor teste se datorește nu numai trombocitopeniei posttranfuzionale, în cazul administrării de sînge heterogrup, ci și scăderii concentrației unor factori plasmatici ai coagulării (factorul V și factorul VIII), al căror titru este scăzut în general în probele de sînge conservat. De aici, se poate deduce că, în cazul unei transfuzii masive, chiar sîngele compatibil poate induce tulburări de coagulabilitate.

În fața unui asemenea caz, se pune problema restaurării volumului intravascular cu sînge compatibil de grup, corectarea deshidratării, menținerea unui ritm de eliminare a urinei, prin administrarea unui diuretic. Dacă survine anuria, trebuie efectuată reechilibrarea hidroelectrolitică după un bilanț foarte strict și a unui aport caloric adecvat, astfel încît catabolismul proteic endogen să diminueze și să se împiedice acumularea de lichid în celule cu apariția semnelor de hiperhidratare. De asemenea hiperkaliemia este de temut — ea însoțind procesele hipercatabolice mai ales atunci cînd există și oligoanurie.

În aceste cazuri grave poate fi necesară chiar și hemodializă.

Cu un asemenea tratament bine condus și adecvat, mortalitatea poate fi scăzută chiar la bolnavii anurici la care, după un timp, se poate produce regenerarea tubulară și restaurarea funcției renale.

Scanned with OKEN Scanner

În ceea ce privește mecanismul distrucției eritrocitare activate *in vivo* prin anticorpi — după transfuzii cu sînge heterogrup — există două mecanisme principale și anume : hemoliza intravasculară și hemoliza extravasculară.

Mecanismul *intravascular* al hemolizei constă dintr-un proces rapid de distrucție eritrocitară datorat hemolizinelor fixatoare de complement. Mecanismul *extravascular* are o manifestare mai lentă și se produce mai întîi în ficat și splină.

Aceste două mecanisme principale de distrucție eritrocitară (intra- și extracelulară) nu pot fi în fond separate în mod strict. Unii aloanticorpi, ca, de pildă, anticorpii anti-Rh, distrug hematiile fără fixarea de complement „clasică", dar această distrucție eritrocitară se produce destul de rapid pentru a determina creșterea concentrației de hemoglobină plasmatică. Producerea hemoglobinemiei după distrucția eritrocitară poate fi pusă în legătură cu rata la care eritrocitele sînt fragmentate sau distruse prin mecanisme citolitice mediate de către celulele fagocitare și celulele limfoide — cu eliberarea ulterioară promptă a hemoglobinei în circulație. Nu se știe încă cu precizie care sînt factorii care determină această rată variabilă a distrucției eritrocitare de către anticorpi cu diferite specificități, caracteristici serologice și concentrații. Hemoliza prin intermediul complementului *in vitro* și posibil și *in vivo* acționează prin instalarea rapidă a leziunilor de membrană eritrocitară, care conduc ulterior la ieșirea materialului celular în plasmă. Aceasta se asociază deseori cu hemoliza, în special intravasculară.

În ceea ce privește mecanismul de hemoliză prin fragmentarea eritrocitelor, care intervine mai ales în fenomenul de hemoliză lentă după transfuzii cu sînge heterogrup, el constă în sechestrarea fragmentelor de eritrocite de către fagocit (fagocitele înglobează eritrocitele incompatibile). Mecanismul fragmentării eritrocitare în hemoliza imună se încadrează în categoria mai mare a tulburărilor hemolitice autoimune. Se impune o considerație teoretică privind dovezile sugerînd că fragmentarea eritrocitară rezultă prin reducerea forțelor mutuale de respingere între celulele respective după adsorbția de anticorpi. Fluxul circulator poate să separe celulele, apoi se produce o alterare a membranei eritrocitare cu fragmentarea acesteia în particule fine. Pe de altă parte, interacțiunea între eritrocitele acoperite cu anticorpi și receptorii Ig ai celulelor fagocitare din sistemul reticulohistiocitar are ca rezultat legarea membranelor eritrocitare pe suprafața celulelor fagocitare (fixe). Sferocitoza și

Scanned with OKEN Scanner

creșterea rigidității eritrocitare obligă eritrocitul deja supus acțiunilor concentrate ale fagocitului și anticorpilor să părăsească mai ușor patul vascular. Fluxul circulator este necesar pentru a activiza sau potența procesul de fragmentare eritrocitară. Se mai impune observația că aloanticorpii hemolitici fixatori de complement pot activa mecanismele de fragmentare eritrocitară *in vivo* și că celulele reticulohistiocitare fixe poartă pe suprafață receptori C și pot reacționa cu eritrocitele acoperite de anticorpi și complement. Mecanismul leziunii induse prin intermediul complementului asupra membranei eritrocitare a fost mai bine înțeles datorită cercetărilor de biochimie. S-a stabilit că heteroanticorpii și complementul pot interacționa pentru a produce alterări moleculare la nivelul membranei eritrocitare care duc la pierderea de electroliți și de alte molecule mici, cu retenția în același timp a hemoglobinei osmotic active. Distrucția eritrocitară în acest moment are la bază un mecanism osmotic: turgescență celulară urmată de ruptura membranei și eliberarea hemoglobinei în plasmă. S-a observat că anticorpii umani anti-A nu sînt implicați în procesul de tulburare a presiunii coloidosmotice responsabil de hemoliză, deoarece leziunea primară a membranei eritrocitare produsă prin anticorpi și complement pare a fi suficient de drastică pentru a permite eliberarea directă a hemoglobinei fără necesitatea apariției prealabile a turgescenței celulare.

Sechestrarea eritrocitului este probabil un proces important implicat în distrucția eritrocitară prin incompatibilitatea de grup. Acest proces este corelat atît cu fragmentarea eritrocitului, cît și cu fagocitarea acestuia. Eritrocitele acoperite cu anticorpi sînt înlăturate din circulație probabil de către celulele reticuloendoteliale din sinusoidele hepatice sau splenice prin recunoaștere imunologică, urmată de fixare și înglobare. Momentele de detaliu ale acestui proces sînt încă necunoscute. S-a stabilit însă că macrofagele și monocitele poartă receptori care pot să interacționeze cu eritrocitele purtînd pe suprafața lor receptori IgG_1 și IgG_3 sau receptori C_3. În unele situații cînd rata distrucției eritrocitare este relativ joasă, procesul de sechestrare eritrocitară se produce cu precădere în splină. Dacă rata distrucției eritrocitare este mai mare, principalul rol în procesul de sechestrare a eritrocitelor revine ficatului. Se cunoaște de fapt că explicația acestui comportament diferențiat al celor două organe bogate în celule reticuloendoteliale — ficatul și splina —, în funcție de rata diferită de distrucție eritrocitară se leagă de diferențele nete între structura sinusoidelor splenice și hepatice. Ficatul

primește o cantitate mai mare din sîngele sistolic. Cînd în organism intră un eșantion de eritrocite incompatibile, este de presupus că ficatul primește un număr mai mare de eritrocite străine și deci că celulele Kupffer vor fagocita mai multe, comparativ cu macrofagele splinei. Rolul procesului citolitic mediat celular cu distrucția eritrocitară de către fagocite nu este încă complet clarificat, dar în acest sens se fac cercetări intense. Eritrofagocitoza exercitată de leucocitele periferice sau macrofagele fixe din sistemul reticulohistiocitar este un mod cunoscut al distrucției eritrocitare, dar semnificația fenomenului se poate mai greu evalua. S-a presupus că eritrofagocitoza reprezintă în final o modalitate nespecifică de eliminare a eritrocitelor devenite neviabile prin intervenția altor mecanisme. Pe de altă parte, eritrofagocitoza intervine uneori ca mecanism primar principal al distrucției eritrocitare. Fagocitele pot avea de fapt ambele tipuri de funcțiuni. Situsurile receptor IgG și C_3 de pe suprafața celulelor fagocitare pot fi implicate în menținerea procesului de fagocitare a eritrocitelor.

Eritrofagocitoza poate fi indusă *in vitro* la nivelul leucocitelor periferice, atît prin aloanticorpi, cît și prin heteroanticorpi. Monocitele și neutrofilele diferă în ceea ce privește necesitățile de anticorpi în vederea manifestării fenomenului de eritrofagocitoză.

Astfel monocitul este capabil de eritrofagocitoză în mod egal față de eritrocite cu receptori IgG sau receptori C_3, pe cînd neutrofilul își manifestă această proprietate numai dacă eritrocitul poartă receptori C_3. Cercetări mai recente sugerează că neutrofilele anormale, provenite de la bolnavi cu leucemie mieloidă, seamănă cu monocitele în ceea ce privește capacitatea de eritrofagocitoză. Numeroase studii au atestat importanța proceselor metabolice exoergice, a efectelor supresoare ale hormonilor corticoizi precum și a condițiilor fizicochimice de incubare în sistem, în asigurarea eritrofagocitozei leucocitare *in vitro*.

Tehnica de marcare eritrocitară cu crom 51 a permis determinarea timpului de supraviețuire *in vivo* a cantităților mici de eritrocite incompatibile și localizarea relativă a acestora în splină și ficat. Folosind această tehnică, este posibil să se administreze mici doze de eritrocite heteroloage marcate cu examinarea consecutivă a ratei de dispariție a celulelor marcate ca test clinic de compatibilitate între donator și receptor.

Severitatea manifestărilor clinice care însoțesc reacțiile posttransfuzionale hemolitice, ca, de pildă, colapsul cardiovascular și lezi-

Scanned with OKEN Scanner

unile renale, nu pot fi corelate în toate cazurile cu rata distrucției eritrocitare. În general, cele mai severe manifestări clinice se asociază cu distrucția eritrocitară intravasculară în sistemul heterogrup ABO. Simptomele pot să apară după administrarea unei cantități mici de eritrocite incompatibile. Reacțiile de hemoliză severă sau fatale, datorate în principal leziunilor renale, se produc atunci cînd se administrează cantități mai mari de sînge incompatibil. Mecanismul leziunilor renale din cadrul reacțiilor posttransfuzionale este mai puțin bine cunoscut. El pare a fi datorat filtrării renale de hemoglobină plasmatică liberă, deși acest factor poate interacționa și cu alte efecte lezionale.

Printre aceste efecte, se impune atenției apariția de trombusuri mici în capilarele glomerulare, precum și în alte sectoare ale vascularizației tisulare, a căror formare este declanșată pe de o parte de complexele imune circulante fixate pe endoteliul capilar, iar pe de altă parte de resturile eritrocitare după liza intravasculară, scăpate de procesul eritrofagocitar.

Șocul coexistent crește incidența și severitatea leziunilor renale după hemoliză posttransfuzională. Este probabil că unele modificări în procesul de filtrare renală la nivelul tubular, induse prin șoc, prin mecanisme reflexe sau prin obstrucție vasculară, de către eritrocitele aglutinate, coagularea intravasculară sau alte mecanisme, pot să contribuie la apariția unor nefropatii acute vasomotorii.

Există însă și alte reacții posttransfuzionale, chiar dacă se fac transfuzii cu sînge compatibil. Astfel, la unii indivizi care au primit multiple transfuzii se pot nota reacții febrile. Aceste reacții se datoresc imunizării receptorului față de leucocitele și plachetele sanguine din sîngele transfuzat. Toate aceste reacții care nu sînt de fapt de incompatibilitate de grup sanguin dar au tot bază imunologică se numesc *reacții de sensibilitate posttransfuzională neeritrocitară*. Demonstrarea directă serologică a prezenței aloanticorpilor antitrombocitari și antileucocitari în serul receptorului de sînge este destul de greu de făcut în practica medicală. Aceste reacții pot fi evitate prin îndepărtarea a cel puțin 90 % din leucocitele și trombocitele donatorului și anume prin spălarea și filtrarea sîngelui și prin tehnici de sedimentare. Trebuie avut însă în vedere că nu toate reacțiile febrile posttransfuzionale cu sînge compatibil sînt datorate unui asemenea mecanism. Relativ la aceste reacții se impune sublinierea că leucocitele și trombocitele poartă antigene din complexul major de histocompatibilitate umană (HL-A) și că bolnavii care primesc transfuzii multiple, aparținînd

Scanned with OKEN Scanner

altui genotip pot să sintetizeze aloanticorpi anti HL-A față de donator. Pe de altă parte, s-a stabilit că folosirea pe scară din ce în ce mai largă a concentratelor trombocitare, și într-o oarecare măsură și a concentratelor granulocitare, în tratamentul unor bolnavi cu deficite celulare, ridică probleme imunologice analoage celor date de reacțiile posttransfuzionale cu sînge heterogrup, în sensul că bolnavii, în urma administrării unui concentrat trombocitar sau granulocitar pot dezvolta anticorpi față de aceste celule străine, fenomen tradus clinic prin semne de intoleranță. Se cunosc date în literatură, de exemplu, care arată că la un bolnav care a primit în mod repetat concentrat eritrocitar poate să apară în timp o trombocitopenie datorată aloanticorpilor antitrombocite transfuzate și antipropriile trombocite, în acest caz reacția prezentînd și un caracter autoimun. În aceeași categorie de reacții posttransfuzionale se încadrează și unele tulburări datorate componentelor proteice non-self din plasma donatorului. Cea mai importantă imunizare cu proteine străine este prin imunoglobuline din clasa IgA, întîlnită mai ales la un receptor uman care prezintă un titru IgA scăzut în propria plasmă. Expunerile ulterioare ale unui asemenea receptor chiar la cantități mici de plasmă pot să ducă la apariția unei reacții anafilactice, în momentul cînd proteinele străine din plasma donatorului reacționează cu anticorpii anti-IgA sintetizați în organismul receptorului cu ocazia heteroimunizării anterioare. Manifestarea clinică a acestei reacții poate fi dramatică (șoc) sau benignă (urticare, edem perioral).

Imunopatologia transfuziei de sînge este dominată de problematica bolii hemolitice a noului născut. Atît dificultățile și limitele tehnicilor, cît și mecanismele de producere a distrucției eritrocitare prin anticorpi heterologi sînt toate implicate în această arie tematică. Boala hemolitică este analoagă unei reacții hemolitice după introducerea de heteroanticorpi care acționează cu eritrocitele antigen ale receptorului. Există, însă, două mari diferențe între o reacție hemolitică la administrarea de heteroanticorpi prin perfuzie la un adult și reacția hemolitică a noului născut:

— transferul de anticorpi către făt este încet și continuu;

— placenta lasă să treacă numai anticorpii cu greutate moleculară relativ mică, deci anticorpii IgG (7S), din circulația maternă. În general sînt necesare cantități mari de heteroanticorpi ai mamei pentru declanșarea bolii hemolitice a noului născut. Aloimunizarea maternă de către făt este precedată de distrucția inițială a celulelor

eritrocitare ale fătului, fragmentele lor trecînd apoi în circulația maternă.

Una din cele mai importante descoperiri privind imunopatologia transfuziilor de sînge, adică imunizarea prin antigen Rh_0 poate fi împiedicată experimental și clinic prin administrarea pasivă de anticorpi anti Rh_0, la subiectul respectiv, efectuată înainte cu puțin timp sau după administrarea de celule antigenice. Această descoperire are o importanță majoră în împiedicarea aloimunizării în perioada sarcinii. Chiar dacă anticorpii anti-Rh_0 sînt administrați lăuzei în primele trei zile după naștere, se suprimă răspunsul imun heterolog. Acest fenomen poate fi corelat cu binecunoscuta imunosupresie la alte categorii de antigene prin administrarea de anticorpi specifici, deși mecanismul nu este complet elucidat. S-a mai indicat administrarea de gamaglobuline specifice anti-Rh_0(D), pentru a împiedica imunizarea unei femei Rh— sau a unui receptor Rh— care a primit sînge Rh+ prin transfuzie. Anticorpii anti-Rh_0 administrați în doză de 300 mg la 15 ml de sînge transfuzat sînt necesari în acest caz pentru a preveni un răspuns de incompatibilitate pe linia antigenului Rh.

Scanned with OKEN Scanner

2.3. Complexul major de histocompatibilitate. Imunologia și imunopatologia transplantelor

2.3.1. Complexul major de histocompatibilitate (CMH)

2.3.1.1. CMH la șoarece : sistemul H-2

Arhitectura CMH a fost bine determinată la nivelul genomului speciei murine. Astfel, s-a stabilit că sediul CMH la șoarece este perechea 12 de cromozomi. Cercetări rafinate de genetică au permis configurarea „hărții" locusului H-2 pe cromozomul 17 de șoarece. Mai mult decît atît : în cadrul acestei „hărți" există diferite gene responsabile de anumite funcții imunologice (fig. 20).

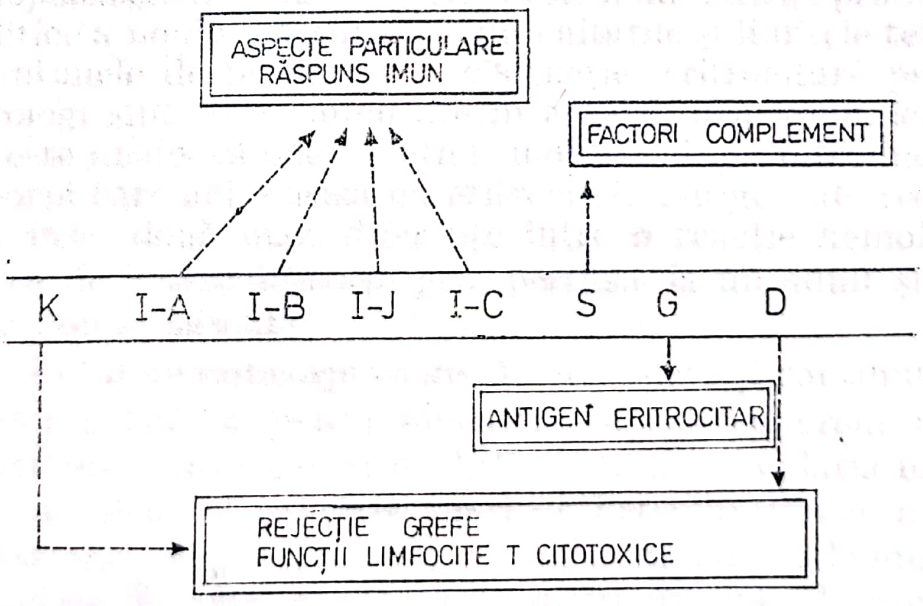


Fig. 20.—Harta locusului H-2 pe cromozomul 17 de șoarece.

2.3.1.2. CMH la om : structura și funcțiile sistemului HL-A

2.3.1.2.1. Aspecte genetice fundamentale

CMH la om poartă numele de *sistemul HL-A*. Acest sistem este localizat la nivelul cromozomului 6. Pentru a înțelege mai bine structura și funcționalitatea sistemului HL-A, sînt necesare cîteva noțiuni de bază asupra genomului uman.

Specia umană prezintă în celulele sale diploide (set cromozomial complet) 23 de perechi de cromozomi din care 22 de perechi autozomali și o pereche de sex.

Termenul de *locus* reprezintă regiunea de pe un anume cromozom asociată cu codificarea unui caracter particular. *Gena* (*alela*) reprezintă materialul genetic corespunzător unui anumit locus. Noțiunea de alelă implică existența unor forme alternante de expresie a genei la nivelul unui locus.

Un locus *homozigot* este acela în care pe ambele cromatide ale perechii de cromozomi se găsește aceeași alelă (fig. 21). Un locus *heterozigot* este acela în cadrul căruia pe cele două cromatide ale perechii de cromozomi se găsesc alele diferite (fig. 22). Noțiunea de „polimorfism" indică existența mai multor alele de-a lungul aceluiași locus (fig. 23). Este cazul sistemului HL-A. Termenul de *codominanță* se

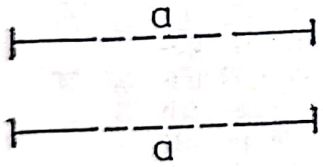


Fig. 21. — Schema unui locus homozigot. (Aceeași alelă pe ambele cromatide ale perechii de cromozomi.)

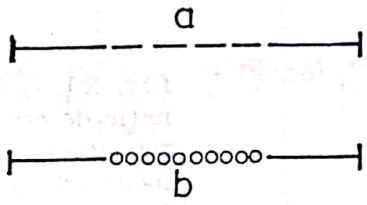


Fig. 22. — Schema unui locus heterozigot. (Alele diferite pe cele două cromatide ale perechii de cromozomi.)

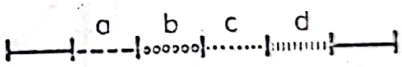


Fig. 23. — Polimorfismul genic. (Existența a mai multe alele pe același locus : cazul HL-A.)

referă la un cromozom heterozigot în care ambele alele se exprimă la nivelul fenotipului (fig. 24).

a) *Mod de segregare.* Dacă părinții sînt ambii heterozigoți, distribuția alelelor la descendenți poate să se facă în mai multe variante. Astfel, după cum reiese din figura 25, dacă tatăl prezintă alelele ab, iar mama alelele cd, descendenții vor putea aparține unuia din următoarele genotipuri : ac, ad, bc, bd.

Scanned with OKEN Scanner

Şansele de asemănare între fraţi provenind din aceiaşi părinţi sînt următoarele : identic cu alt frate : 25 % ; identic numai la o singură alelă (haploidentic) : 50 % (ac—ad ; bc—bd) ; total diferit de ceilalţi fraţi : 25 %.

b) *Fenomenul de crossing-over.* În cursul meiozei (diviziunii reducţionale) care are loc în procesul de maturare a celulelor sexuale, dec

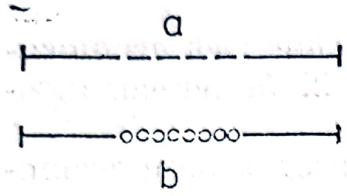


Fig. 24. — Fenomenul de codominanţă genică.

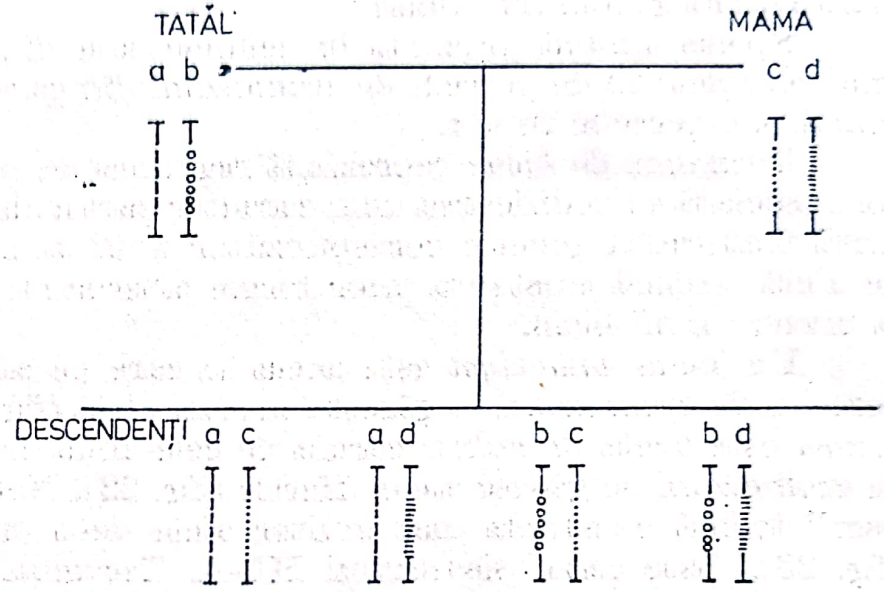


Fig. 25. — Posibilităţi de distribuţie a alelelor la descendenţi în cazul a două genoame parentale heterozigote.

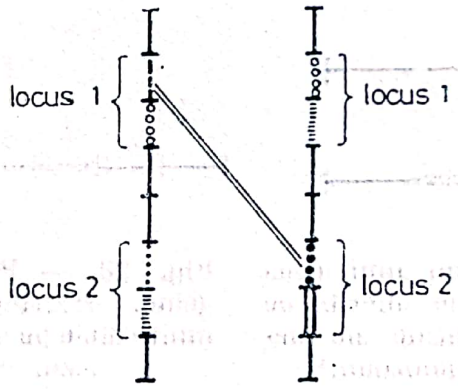


Fig. 26. — Fenomenul genetic de *crossing-over*. (Unirea unei alele de pe un locus cu o alelă de pe alt locus al cromatidei de vizavi.)

odată cu reducerea numărului diploid (46) la un număr haploid (23) de cromozomi, poate să apară la o frecvenţă foarte scăzută, unirea unei alele de pe un locus cu o altă alelă situată pe alt locus din cromatida de vizavi (fig. 26).

2.3.1.2.2. Genetica sistemului HL-A

Aşa cum arătam mai sus, s-a stabilit că localizarea CMH la om (adică a sistemului HL-A) este ramura scurtă a cromozomului 6.

Sistemul HL-A cuprinde două categorii de loci: principali și respectiv asociați.

Există patru loci *principali*, care sînt heterozigoți și polimorfi, și au fost denumiți convențional: HL-A-A (IA); HL-A-B (II); HL-A-C (T sau A-J); HL-A-D (MLR-S sau LD).

Locii *asociați* sînt: HL-A-DR (DRw); determinanții pentru codificarea factorilor dependenți de complement; factorul properdinic B; factorii pentru codificarea grupelor sanguine.

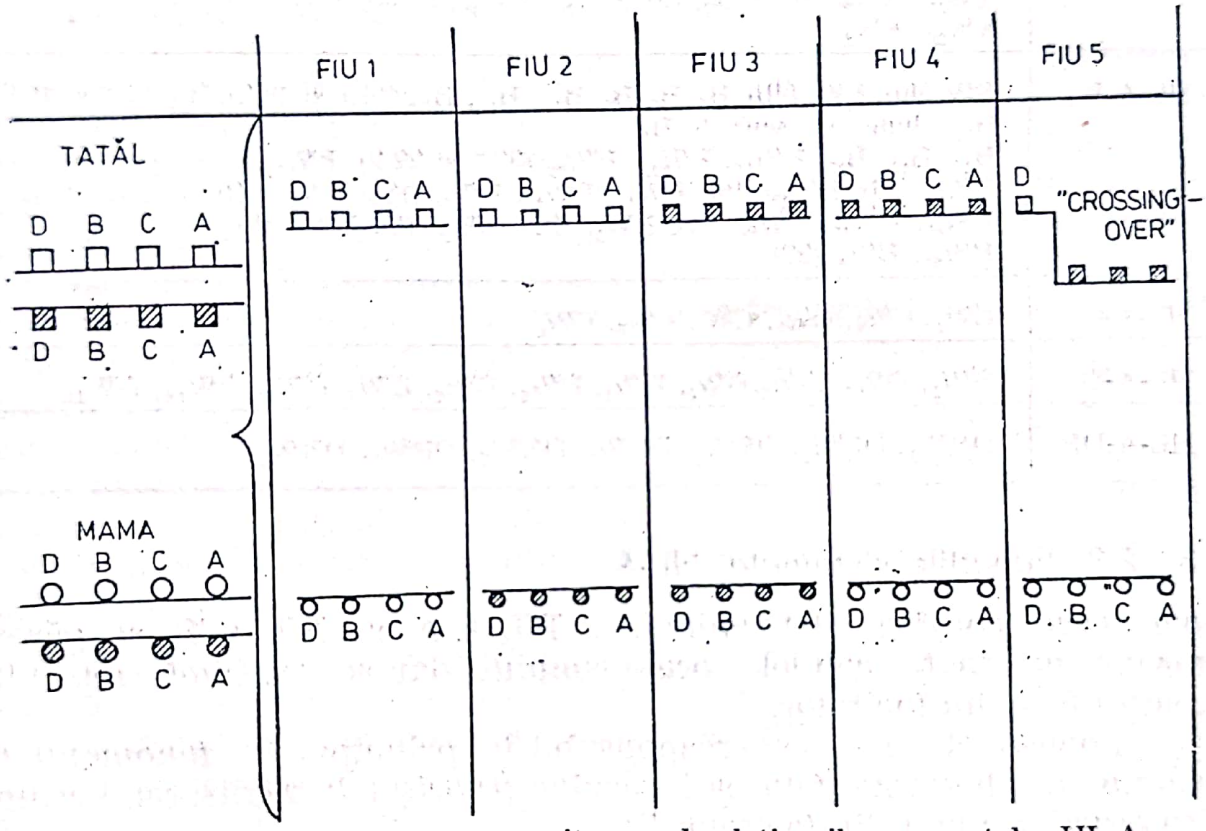


Fig. 27. — Posibilități de transmitere a haplotipurilor parentale HL-A la descendenți.

a) **Segregarea la nivelul sistemului HL-A.** Un copil va moșteni totdeauna un cromozom cu loci HL-A dintre care un haplotip de la mamă și unul de la tată. La frații proveniți din aceiași părinți există numai patru posibilități diferite de exprimare a locilor din sistemul HL-A (exceptînd posibilitatea rară de *crossing-over*): 25%: HL-A identic; 50%: un haplotip comun (de la unul din părinți); 25%: două haplotipuri diferite.

În figura 27 dăm un asemenea exemplu. Este vorba de cele trei posibilități plus o posibilitate rară de *crossing-over*.

b) **Configurația hărții HL-A.** În tabelul ce urmează, figurăm cei mai importanți determinanți HL-A din structura genomului uman :

LOCUS	TIPURI HL-A
HL-A-A	A_1, A_2, A_3, A_9, A_{10}, A_{11}, A_{25}, (10), A_{26} (10), A_{28}, A_{29}, AW_{19}, AW_{23} (9), AW_{24} (9), AW_{30}, AW_{31}, AW_{32}, AW_{33}, AW_{34} AW_{36}, AW_{43}
HL-A-B	BW_4 (4a), BW_6 (4b), B_5, B_7, B_8, B_{12}, B_{13}, B_{14} (14.1 și 14.2), B_{15} (15.1 și 15.2) B_{17}(„lung" și „scurt"), B_{18}, B_{27}, B_{37}, B_{40}, BW_{16}, BW_{21}, BW_{22} (22.1 și 22.2), BW_{35}, BW_{38} (16), BW_{39} (16), BW_{41}, BW_{42}, BW_{44} (12), BW_{45} (12), BW_{46}, BW_{47}, BW_{48} (21), BW_{50} (21), BW_{51} (5), BW_{52} (5), BW_{53}, BW_{54}(22).
HL-A-C	CW_1, CW_2, CW_3, CW_4, CW_5, CW_6
HL-A-D	DW_1, DW_2, DW_3,DW_4, DW_4, DW_6, DW_7, DW_8, DW_9, DW_{10}, DW_{11}
HL-A-DR	DRW_1, DRW_2, DRW_3, DRW_4, DRW_5, DRW_6, DRW_7

2.3.1.2.3. Funcțiile sistemului HL-A

Locii care codifică determinanții HL-A-A și HL-A-B se găsesc prezenți pe toate celulele organismului dar se exprimă mai ales la suprafața limfocitelor.

Locusul HL-A-C este responsabil în principal de fenomenul de respingere a heterografelor și intervine prioritar în realizarea acțiunii citotoxice imune a limfocitelor T.

Locusul HL-A-D este determinat de subloci polimorfi și intervine în reacțiile de amestec limfocitar *in vitro* (vezi punctul 2.3.1.2.4, b).

Determinanții HL-A-DR prezintă o serie de implicații în funcțiile aparatului imun și anume :

— sînt aloantigene exprimate pe suprafața limfocitelor T ;

— se exprimă pe celulele sistemului reticulohistiocitar ;

— au o intervenție majoră în reacțiile de amestec limfocitar *in vitro* ;

— prezintă analogie cu funcțiile genei I-A din sistemul H-2 de șoarece și anume : răspund de stimularea blastică specifică a limfo-

citelor, B, intervin în transferul de informaţie antigenică de la macrofag către limfocitul T antigen-reactiv şi contribuie la realizarea unor fenomene de supresie imună.

2.3.1.2.4. Determinarea (testarea) tipului HL-A la om

Pentru determinarea curentă a tipului HL-A, de o mare importanţă în special în cazul transplantelor de organ (vezi punctul 2.3.1.3.1), se folosesc metode serologice şi reacţia de amestec limfocitar.

a) *Metodele serologice* constau în efectuarea unor teste de microtoxicitate. În principiu, limfocitele subiectului, purificate prin metode uzuale (separare prin centrifugare în gradient), sînt puse în contact cu diferite seruri monospecifice standard corespunzătoare unui anume determinant HL-A. La acest sistem se adaugă obligatoriu complement (ser proaspăt de animal). Rezultatul se apreciază de regulă printr-un test de viabilitate celulară. Cel mai frecvent folosit este testul „excluziei unui colorant vital", bazat pe faptul că celulele vii nu se colorează în prezenţa unui asemenea colorant (exemplu : albastru tripan, eozină). Deşi metodologia serologică este simplă şi destul de fidelă ea nu poate fi aplicată la nivelul tuturor laboratoarelor care servesc un serviciu chirurgical specializat în transplante de organe, datorită dificultăţilor de obţinere a unor seruri monospecifice standard cu înaltă specificitate.

b) *Reacţia de amestec limfocitar* are ca principiu faptul că în cazul unei incompatibilităţi HL-A între donatorul şi primitorul virtual de transplant, punerea în contact a limfocitelor donatorului cu cele ale receptorului este urmată de stimularea blastică a uneia din cele două populaţii limfocitare. În practică se folosesc limfocitele de donator (ca agenţi antigenici stimulanţi) şi limfocitele de primitori (ca populaţie reactivă). Pentru a împiedica aprioric stimularea limfocitelor donatorului, suspensia de asemenea limfocite este în prealabil tratată cu mitomicină C sau iradiată cu raze X. Astfel, se suprimă capacitatea de sinteză a ADN-ului propriu.

Populaţia limfocitară a donatorului, tratată după cum arătam mai sus, este pusă în contact cu o suspensie proaspătă de limfocite de la virtualul primitor de grefă. Se efectuează o cultură limfocitară mixtă în mediu nutritiv adecvat. După incubare timp de 3—4 zile la 37°C în atmosferă de CO_2 se adaugă timidină marcată cu tritiu şi apoi se apreciază rata de încorporare a izotopului prin măsurarea radiome-

trică a masei celulare. Deşi reacţia de amestec limfocitar este mai pretenţioasă din punct de vedere tehnic, ea se preferă metodelor serologice, chiar la nivelul unor laboratoare cu dotare medie, deoarece elimină greutăţile de obţinere a serurilor monospecifice anti HL-A şi este foarte fidelă, fapt atestat de corelaţia între rezultatele acestei reacţii şi şansa de supravieţuire a transplantului de organ după intervenţia chirurgicală.

2.3.1.3. Imunologia şi imunopatologia complexului major de histocompatibilitate la om

2.3.1.3.1. Transplantele şi fenomenul de respingere a grefei

a) *Condiţii de tolerare a grefei.* O grefă sau un transplant de ţesut/organ are cu atît mai multe şanse de a fi tolerat de sistemul imun al receptorului cu cît există un grad mai mare de înrudire între donatorul şi primitorul de grefă la nivelul sistemului HL-A. Evident, situaţia ideală pentru efectuarea unui transplant este identitatea HL-A între donator şi primitor, situaţie care însă se întîlneşte foarte rar.

b) *Fenomenul de respingere a grefei (transplantului).* În cazul unei incompatibilităţi între donatorul şi primitorul de grefă (transplant), se produce o reacţie imună de un tip particular : *reacţia gazdă-contra-grefă.* Această reacţie comportă atît aspecte histopatologice cît şi aspecte imunologice.

Aspecte histopatologice ale reacţiei gazdă-contra-grefă. În cazul unei incompatibilităţi HL-A între donatorul şi receptorul grefei (transplantului), se instalează mai curînd sau mai tîrziu *fenomenul de respingere*, caracterizat printr-o suită de procese care pot fi rezumate astfel :

— apariţia unui „guler" limfocitar la nivelul de contact între grefă şi ţesuturile primitorului ;

— instalarea unor modificări degenerative la nivelul grefei, constînd mai întîi din alterări discrete la nivelul nucleilor celulari şi ulterior din necrobioză celulară ;

— momentul final al reacţiei de respingere este eliminarea grefei (transplantului).

Scanned with OKEN Scanner

Aspecte imunologice ale reacției gazdă-contra-grefă. Sistemul imun al primitorului de grefă (transplant) este solicitat în cursul reacției de respingere, atît pe linia imunității celulare, cît și pe linia imunității umorale, cu predominanța reactivității imune celulare.

● *Imunitatea celulară.* În urma recunoașterii de către limfocitul T antigen-reactiv a grefei ca non-self are loc procesul de transformare blastică specifică, caracterizat prin creșterea sintezei de ADN-limfocitar, urmată de activarea mitotică, cu apariția generațiilor succesive de imunoblaști. Imunoblaștii, la rîndul lor, vor da naștere fie limfocitelor T de memorie, fie limfocitelor T efectoare (citotoxice). Aceste limfocite T efectoare reprezintă celule imune cu orientare specifică spre determinanți antigenici diferiți din sistemul HL-A (A, B, C), corespunzători genomului grefei.

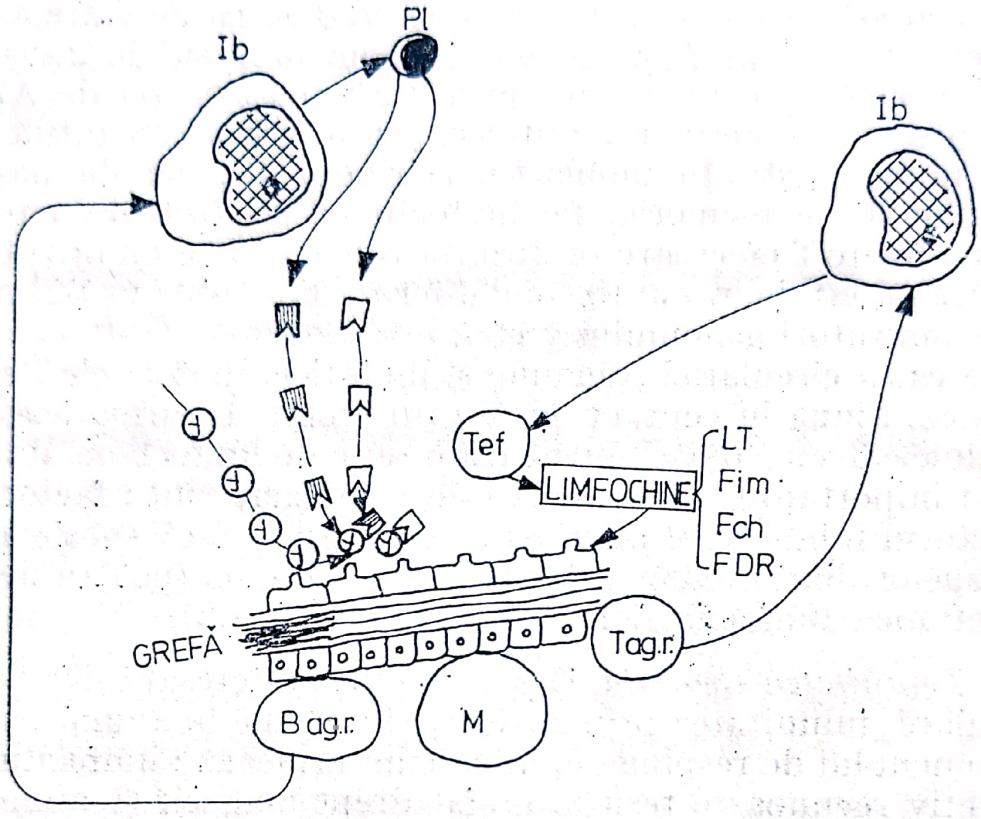
Pe calea circulației sanguine și limfatice, limfocitele T efectoare (citotoxice) ajung în contact cu țesutul grefat. În urma acestui contact, celulele T citotoxice eliberează o serie de limfochine, dintre care cele mai importante în fenomenul de respingere sînt : factorul mitogen, factorul inhibitor al migrării macrofagelor, factorul de armare a macrofagelor, limfotoxina și factorii chimiotactici (pentru detalii privind acțiunea limfochinelor, vezi punctul 1.3.4.2).

● *Imunitatea umorală.* Deși mai puțin interesată decît imunitatea celulară, imunitatea prin anticorpi intervine în anumite momente ale fenomenului de respingere, după cum urmează : limfocitul B anti-gen-reactiv recunoaște țesutul grefat drept non-self și anume determinanții HL-A corespunzători unui locus DR. După activarea limfocitară (transformare blastică specifică), din imunoblaști rezultă fie limfocite B de memorie, fie celule secretoare de anticorpi (plasmocite). Plasmocitele sintetizează două feluri de anticorpi anti-grefă (anticorpi IgG sau IgM) care împreună cu fragmente antigenice de grefă formează complexe imune circulante, capabile ca, în contact cu endoteliul vaselor din preajma țesutului grefat, să activeze complementul, din acest proces rezultînd alterări vasculare marcate. Se mai asociază și anticorpi cu activitate litică directă asupra grefei. Menționăm că acest tip de anticorpi (citotoxici) se întîlnește mai rar și anume numai în cazuri de incompatibilitate majoră HL-A între donatorul și primitorul de transplant la nivelul locusului HL-A-DR. Este vorba de așa-numitul fenomen de *respingere hiperrapidă.*

c) *Reactivitatea grefei față de gazdă (reacția grefă-contra-gazdă).* În anumite situații ca, de exemplu, în cazul grefelor de măduvă osoasă

Scanned with OKEN Scanner

cu incompatibilitate HL-A între donator și primitor, au loc fenomene de reactivitate imună la nivelul celulelor țesutului grefat. Aceste fenomene se pot însoți și de manifestări la distanță, tardive, din par-



Tag.r = limfocit T antigen-reactiv
Bag.r = limfocit B antigen-reactiv
Ib = imunoblast
Tef = limfocit T efector
M = macrofag
= Ig M
= Ig G
= complement
= complexe imune cu Ig M
= complexe imune cu IgG
Pl = plasmocit

Fig. 28. — Reprezentarea schematică a interesării imunității celulare și umorale în reacția de respingere a grefei.

tea organismului gazdei (erupție cutanată maculopapuloasă, hepatomegalie, diaree etc.).

d) *Aspecte particulare ale transplantelor de organe sau țesuturi la om.* În zilele noastre, transplantele de organe sau țesuturi nu mai reprezintă un deziderat, ci o realitate în practica medicală, deschizînd

de fapt perspective deosebite chirurgiei de substituție. Cele mai importante categorii de transplante folosite astăzi cu succes sînt transplantul de rinichi, măduvă osoasă, cord, ficat, pancreas.

În cele ce urmează ne vom referi în mod particular la transplantul de rinichi și de măduvă osoasă.

● Transplantul de rinichi. Condițiile necesare pentru reușita transplantului:

— *identitate sau înrudire la nivelul sistemului HL-A (A, B).* S-a stabilit că transplantele de rinichi prezintă șansă de supraviețuire diferită în funcție de înrudirea antigenelor HL-A (locusul A și locusul B) între donator și primitor.

Astfel procentele de supraviețuire a transplantelor de rinichi peste doi ani de la grefare se prezintă după cum urmează: între indivizi (frați) cu identitate HL-A (A, B) = 80%; între părinte și fiu cu identitate HL-A (A, B) = 61%; între indivizi (frați) cu un singur haplotip HL-A (A, B) identic = 41%;

— *corelație cu locusul HL-A (C).* Această corelație este importantă în determinarea șansei de tolerare a transplantului renal, dar prezintă aspecte mai puțin clare și de aceea deocamdată nu se poate face o legătură directă între serotiparea antigenelor HL-A-C, pe de o parte, și supraviețuirea transplantului de rinichi, pe de altă parte;

— *corelație cu fenomenul de crossing-over între locusul HL-A-D și locusul HL-A-B.* În cazul apariției unui asemenea fenomen, grefa de rinichi poate să fie urmată de insucces, chiar dacă tipizarea HL-A (A, B, C) indică înrudire între donatorul și primitorul de grefă.

Împărțirea convențională a donatorilor și primitorilor de transplant renal. Pentru orientarea practicianului privitor la șansele de tolerare a transplantului renal, donatorii și primitorii au fost împărțiți în mai multe grupe pe baza diferenței sau înrudirii la nivelul locilor HL-A-A și HL-A-B: grupa *A* = nici o diferență antigenică; grupa *B* = nici un antigen al donatorului diferit de antigenele receptorului, dar nu toate antigenele primitorului prezente la donator; grupa *C* = un antigen al donatorului diferit; grupa *D* = două antigene ale donatorului diferite; grupa *E* = trei antigene ale donatorului diferite; grupa *F* = reactivitate încrucișată netă între donator și primitor (incompatibilitate în sistemul eritrocitar ABO).

Șansele optime de tolerare a unui transplant renal le prezintă donatorii și primitorii din grupele A și B.

Scanned with OKEN Scanner

Metodologia de testare a compatibilității donatorului și primitorului de transplant renal. În vederea stabilirii grupelor de mai sus se face tipizarea limfocitelor donatorului și receptorului în prezența serurilor monospecifice HL-A corespunzătoare locilor A, B și C. Testarea este, așa cum arătăm la punctul 2.3.1.2.4, simplă, dar necesită seruri monospecifice greu de procurat. Reacția de amestec limfocitar, deși nu oferă date concrete cu privire la înrudire HL-A între donator și primitor, este un test util pentru stabilirea șanselor de tolerare a transplantului renal. În cazul în care amestecul de limfocite donator-primitor nu este urmat de transformarea blastică a limfocitelor primitorului se poate conta pe un succes probabil al transplantului renal.

● Transplantul de măduvă osoasă. Condițiile pentru succesul deplin al unui transplant de măduvă osoasă sînt existența unui genotip HL-A identic între donator și primitor și absența transformării blastice limfocitare în reacția de amestec limfocitar. În cazul incompatibilității, adică a neîncadrării în aceste condiții, poată să apară reacția grefă-contra-gazdă.

● Alte transplante de organe. Nu vom insista mai mult asupra aspectelor particulare ale grefelor de *inimă*, *ficat* sau *pancreas*, deoarece din punct de vedere practic problemele sînt aceleași ca la transplantele de rinichi și de măduvă osoasă.

Menționăm că în cazul în speță al transplantului de cord, chiar în situația favorabilă a înrudirii HL-A dintre donator și primitor, este necesară aplicarea terapiei imunosupresive susținute, în vederea prelungirii perioadei de supraviețuire a transplantului. Cu atît mai dificilă apare situația în care poate fi pus chirurgul de a efectua un transplant de cord la care donatorul reprezintă un cadravru proaspăt provenit de la un tînăr sănătos. În asemenea împrejurări, terapia imunosupresivă postoperatorie se impune cu atît mai mult, cu cît nu se pot obține, de regulă, relații cu privire la „harta" HL-A a donatorului.

2.3.1.3.2. Sistemul HL-A și boala canceroasă

a) *Date experimentale.* A fost stabilită prin cercetări reproductibile corelația între complexul major de histocompatibilitate murin (H-2) și sensibilitatea unor linii genetice de șoareci față de virusurile leucemice murine. Astfel linia de șoarece C_3H purtătoare a determinantului antigenic $H\text{-}2^k$ este foarte sensibilă la tumora leucoci-

tară indusă prin injecţia de virus leucemic Gross. Pe de altă parte, linia de şoareci $C_{57}Bl$, purtătoare a determinantului antigenic H-2^b, este rezistentă la infecţia cu acelaşi tip de virus leucemic.

b) *Date clinice.* Următoarele argumente sînt astăzi aduse în favoarea relaţiei între boala canceroasă umană şi sistemul HL-A :

— în *leucemia limfoidă acută*, majoritatea pacienţilor care supravieţuiesc timp îndelungat prezintă în genom determinanţii HL-A-A2 şi HL-A-B12 ;

— indivizii cu determinanţi antigenici HL-A-AW19 şi, respectiv, HL-A-B5 evoluează rapid spre exitus după contractarea bolii Hodgkin ;

— în *cancerul pulmonar*, indivizii HL-A-B8 prezintă o evoluţie prelungită.

2.3.1.3.3. Corelaţia între sistemul HL-A şi infecţii

Predispoziţia unor indivizi cu anumită configuraţie a antigenelor de histocompatibilitate faţă de infecţie a fost de asemenea observată. Astfel, indivizii HL-A-B5 prezintă un răspuns blastic limfocitar specific la stimularea cu antigene streptococice mult mai rapid şi mai intens decît alţi indivizi. Pe de altă parte, s-a stabilit o înrudire de specificitate între unele antigene bacteriene legate de peretele celular şi anumiţi determinanţi HL-A. Nu este de neglijat nici legătura frapantă între prezenţa unor antigene HL-A şi susceptibilitatea indivizilor respectivi la infecţia cu Mycobacterium leprae.

S-a remarcat cu o frecvenţă semnificativă din punct de vedere statistic o reactivitate imună umorală slabă după vaccinarea antivariolică cu virus vaccinia, la indivizii HL-A-CW3.

În acelaşi context se situează şi observaţia asocierii antigenului HL-A-BW16 cu răspuns slab în anticorpi după vaccinarea cu virus gripal tip A.

2.3.1.3.4. Sistemul HL-A şi bolile atopice

S-a remarcat că indivizii umani cu predispoziţie pentru stări de hipersensibilitate imediată tip I (atopică), faţă de fîn sau polen, au de regulă descendenţi la care are loc combinarea anumitor haplotipuri parentale în sistemul HL-A.

Scanned with OKEN Scanner

2.3.1.3.5. Sistemul HL-A și bolile autoimune

În tabelul care urmează redăm cîteva date privind corelația între frecvența sau prezența unor antigene HL-A, pe de o parte, și incidența unor boli cu patogenie autoimună, pe de altă parte.

Afecțiune	Frecvență antigene HL-A	
	ridicată	scăzută
Spondilită anchilopoietică	HL-A-B_{27}	
Sindrom Reiter	HL-A-B_{27}	
Uveită	HL-A-B_{27}	
Artrită	HL-A-B_{27}	
Scleroză multiplă	HL-A-B_7	
	HL-A-DW_2	HL-A-B_{12}
Myasthenia gravis	HL-A-B_8	
Diabet juvenil autoimun	HL-A-A_1	
	HL-A-B_8	
	HL-A-DW3	

2.3.1.3.6. Sistemul HL-A și deficitul de complement seric

Este neîndoielnic că deficitul în fracțiunea C_2 a complementului a unor indivizi umani se asociază cu prezența următoarelor antigene HL-A : A10, B18 sau DW2, pe cînd deficitul în fracțiunea C_4 este asociat cu alte antigene HL-A : A2, B40, CW3.

2.3.1.3.7. Sistemul HL-A și grupele sanguine

Evident, între diferitele sisteme de antigene eritrocitare și sistemul HL-A există corelații. S-a notat însă o legătură strînsă, directă, între așa-numitul sistem Bg de antigene eritrocitare și anumite configurații ale antigenelor HL-A, la nivelul celor patru loci principali.

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

2.4. Imunologia şi imunopatologia bolii canceroase

2.4.1. Antigene tumorale

Atît în studii experimentale la animale cu tumori naturale sau virus-induse, cît şi în cazul tumorilor umane, s-a stabilit că antigenele prezente pe suprafaţa unei celule canceroase pot fi de două categorii : antigene induse *de novo* de către agentul oncogen şi antigene ancestrale reexprimate odată cu cancerizarea.

2.4.1.1. Antigene induse de novo de către agentul oncogen

Există unele fracţiuni antigenice cu specificitate strictă pentru o anumită tumoră în funcţie de agentul oncogen (de regulă, viral) şi respectiv, de specia şi alotipul purtătorului de tumoră. Dintre aceste antigene, care nu se găsesc niciodată pe celulele normale ale speciei respective, ci numai pe celulele tumorale, menţionăm trei :

Antigenul T reprezintă un antigen exprimat pe suprafaţa tumorilor induse la animale cu virusuri oncogene (exemplu : tumorile adenovirus-induse la şoarece).

Antigenul specific tumoral de respingere (ASTR), apărut fie în tumori virus-induse, fie în cele provocate de carcinogene chimice, este corelat în mod specific cu capacitatea gazdei de a respinge tumora prin mecanisme imune celulare.

Antigenul asociat respingerii tumorale (AART), asemănător precedentului, este cu atît mai bogat reprezentat pe suprafaţa unei tumori cu cît sistemul timodependent al receptorului are capacitatea

de a se diferenţia mai repede şi mai eficient în vederea respingerii tumorii.

2.4.1.2. Antigene ancestrale reexprimate odată cu cancerizarea

În această categorie se înscrie *antigenul carcinoembrionar*. Acest determinant se găseşte prezent, atît la om cît şi la animal, în celulele normale ale embrionului şi fătului şi, respectiv, în celulele tumorale ale adultului, dar nu se exprimă pe suprafaţa celulelor normale ale adultului. Mecanismul este următorul: în genomul celulei umane sau animale normale, se găseşte o genă care codifică exprimarea antigenului carcinoembrionar. Această genă este activă în timpul vieţii intrauterine, ceea ce se traduce prin posibilitatea sa de decelare a antigenului pe suprafaţa celulei normale fetale. Odată cu maturizarea organismului, în celula adultă gena respectivă este represată şi astfel antigenul carcinoembrionar nu se mai exprimă fenotipic. În momentul declanşării procesului malign are loc o tulburare genetică, a cărei rezultantă, printre altele, este derepresarea genei care codifică antigenul carcinoembrionar, ceea ce se traduce prin reexprimarea acestuia (fig. 29).

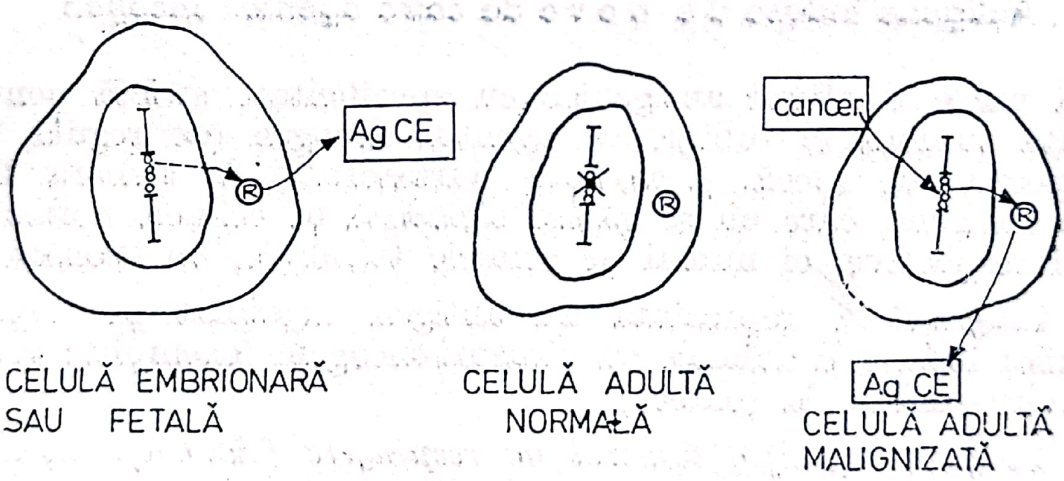


Fig. 29. — Mecanismele genetice care determină reexprimarea antigenului carcinoembrionar în celula malignizată.

Prezenţa antigenului carcinoembrionar, precum şi a anticorpilor corespondenţi în fazele incipiente ale bolii canceroase reprezintă un indicator diagnostic şi chiar prognostic deosebit de valoros în cli-

nică. Pe de altă parte, așa cum vom arăta mai jos, se pun astăzi unele speranțe în folosirea acestui antigen drept agent imunizant profilactic de perspectivă.

2.4.2. Imunitatea anticanceroasă

2.4.2.1. Imunitatea umorală

Așa cum reiese din figura 30 celula tumorală, prin antigenele exprimate pe suprafața sa, este recunoscută de către limfocitele B antigen-reactive care suferă un proces de transformare blastică, cu apariția imunoblaștilor din care rezultă limfocitele B de memorie sau celule secretoare finale (plasmocite). Anticorpii antitumorali specifici secretați de către plasmocite iau contact cu celula tumorală.

Anticorpii antitumorali pot fi împărțiți, din punctul de vedere al contribuției lor în apărarea anticanceroasă, în două categorii: eficienți și facilitanți.

Anticorpii *eficienți* potențează capacitatea organismului de a limita în mod specific proliferarea tumorală. Acești anticorpi pot acționa fie direct, prin efect citotoxic antitumoral, fie prin intermediul celulelor K (vezi 1.3.5.2.4). În esență, în cel de-al doilea caz, celula tumorală acoperită cu anticorpi este lizată de către celula K.

Anticorpii *facilitanți* acționează în mod paradoxal împotriva posibilității organismului de a se apăra față de tumoră. Acești anticorpi așezîndu-se prin situsurile lor specifice la suprafața celulei tumorale, maschează implicit determinanții antigenici tumorali și astfel celulele limfocitare B sau T antigen-reactive nu mai pot recunoaște tumora în vederea diferențierii pentru răspuns imun.

2.4.2.2. Imunitatea celulară

Trebuie reținut din capul locului că imunitatea mediată celular reprezintă modalitatea princeps de apărare specifică în cancer. În figura 31 reprezentăm schematic implicațiile acestei forme de răspuns imun în tumori: celula tumorală, prin determinanții săi antigenici, este recunoscută de limfocitele T antigen-reactive; acestea, la rîndul lor suferă procesul de transformare specifică, din imunoblaști rezultînd în final fie limfocite T de memorie (capabile de recu-

Scanned with OKEN Scanner

noaștere mai rapidă a noi eșantioane de celule tumorale), fie limfocite T efectoare (verigile finale ale răspunsului imun celular). Limfocitele T efectoare ajung în contact cu celula tumorală-antigen. În urma

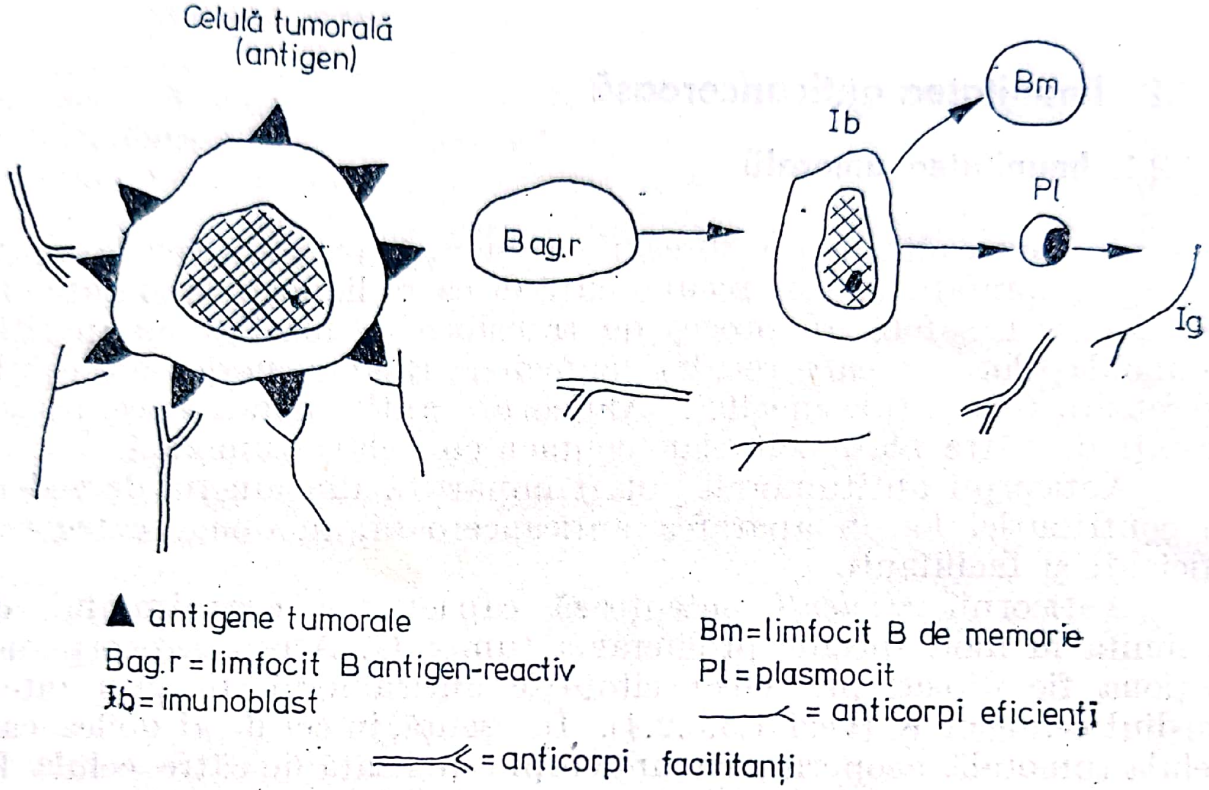


Fig. 30. — Recunoașterea celulei tumorale-antigen de către limfocitele B. Formarea de anticorpi antitumorali facilitanți și eficienți.

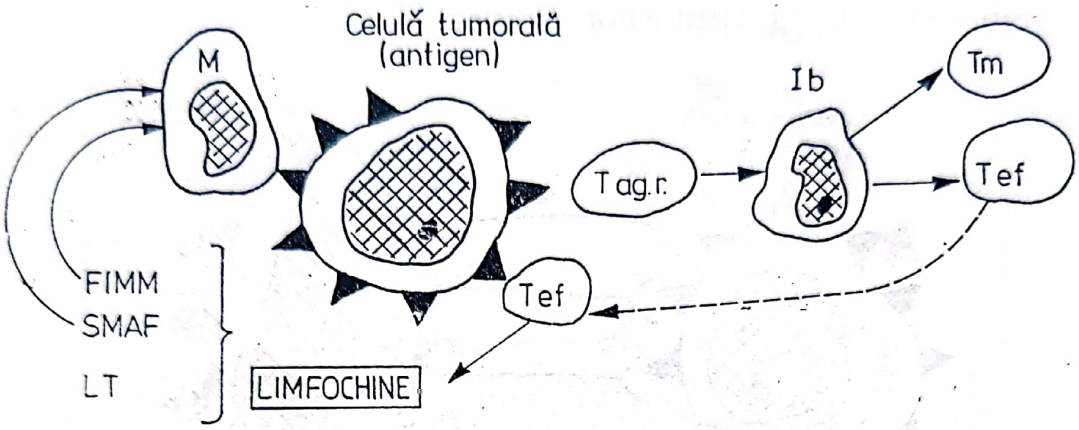
acestui impact, limfocitele T efectoare secretă limfochine, cu activitate specifică. Dintre limfochinele care acționează prioritar în cancer, menționăm :

— *factorul mitogen*, capabil să stimuleze transformarea blastică a limfocitelor T în contact cu antigenul tumoral ;

— *limfotoxina*, care determină liza tumorii prin fenomenul de citotoxicitate imună directă ;

— *factorul inhibitor al migrării macrofagelor (FIMM)* care acționează asupra macrofagelor din zona procesului tumoral, inducîndu-le capacitatea de a se mișca mai încet, deci de a prelucra mai mult antigen tumoral, în vederea oferirii acestuia pentru recunoaștere a limfocitelor T ;

— *factorul de armare a macrofagelor (FARM)* care acționează de asemenea asupra macrofagelor prin potențarea activității lor litice asupra celulei tumorale.



M = macrofag
▲ = antigene tumorale
Tag.r. = limfocit T antigen-reactiv
Ib = imunoblast
Tm = limfocit T de memorie
Tef = limfocit T efector

Fig. 31. — Implicațiile imunității celulare în cancer.

2.4.2.3. Activitatea celulelor K

Celulele K (*killer*) se numără printre factorii cei mai prompți de stăvilire a procesului de proliferare malignă prin mijloace imune.

Celula K este prevăzută pe suprafața sa cu receptori Fc, capabili să fixeze capătul Fc din molecula de imunoglobuline specifice anticanceroase. În cazul în care celula tumorală poartă pe suprafața sa anticorpi specifici atașați, bineînțeles prin fragmentele Fab, celula K atacă această celulă tumorală prin „agățarea" fragmentelor Fc libere din moleculele imunoglobulinice. Formarea edificiului celulă tumorală-anticorpi specifici-celulă K se soldează cu liza celulei tumorale de către celula K (fig. 32).

2.4.2.4. Activitatea celulelor NK și NC

Așa cum arătam în cadrul punctului 1.3.5.2.4, una din cele mai importante bariere în calea procesului tumoral incipient sau consti-

Scanned with OKEN Scanner

tuit este reprezentată de celulele NK (*natural killer*) şi NC (*natural cytotoxic*). Diferenţa între cele două categorii constă în faptul că celulele NK acţionează asupra tumorilor limfatice, pe cînd celulele Nc acţionează asupra tumorilor solide.

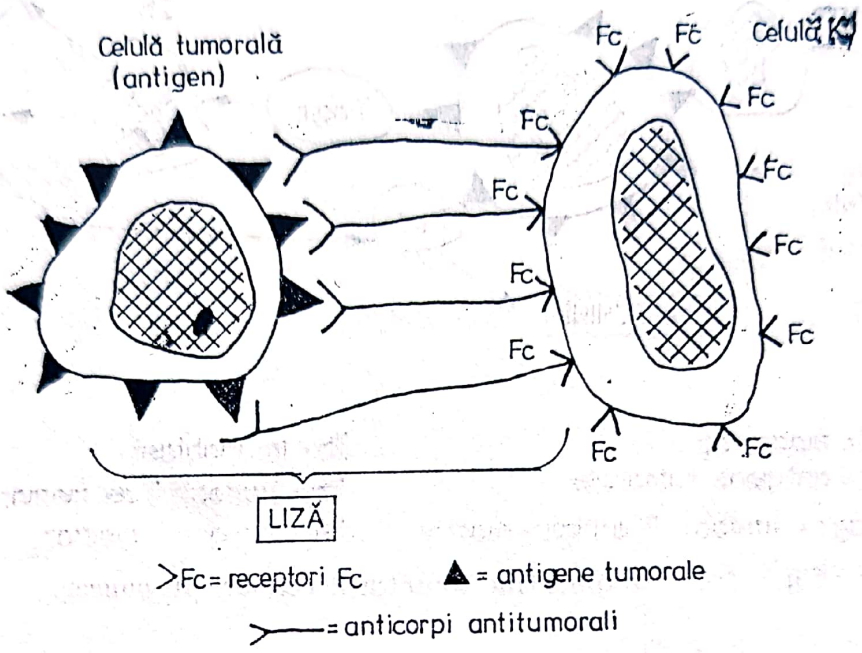


Fig. 32. — Mecanismele activităţii litice a celulelor ucigaşe (*k = killer*) asupra celulelor tumorale acoperite cu anticorpi specifici antitumorali.

După cum reiese din figura 33, celula NK sau NC prezintă pe suprafaţa sa atît receptori Fc, cît şi alţi receptori, însă insuficient cunoscuţi, capabili de a recunoaşte o celulă tumorală. Cu alte cuvinte, spre deosebire de celula K, celula NK sau NC acţionează atît asupra unei celule canceroase acoperite cu anticorpi (prin intermediul receptorilor Fc), cît şi asupra celulelor canceroase neacoperite cu anticorpi (prin intermediul celorlalţi receptori). Rezultatul contactului celulă NK sau NC cu celula tumorală este liza tumorii.

O altă deosebire esenţială între celula K, pe de o parte, şi celula NK sau NC, pe de altă parte, este că celula K apare în cursul imunizării cu antigene tumorale, deci este o celulă imună, pe cînd celula NK sau NC reprezintă o celulă normală (naturală). Oricum, este de reţinut rolul esenţial pe care celulele NK şi NC îl au în limitarea procesului de proliferare tumorală. Unii autori explică faptul că foarte mulţi indivizi poartă în organism celule tumorale fără actuali-

zare clinică, în mare măsură prin capacitatea propriilor eșantioane NK și NC de a limita procesul tumoral și, în ultimă instanță, de a elimina tumora.

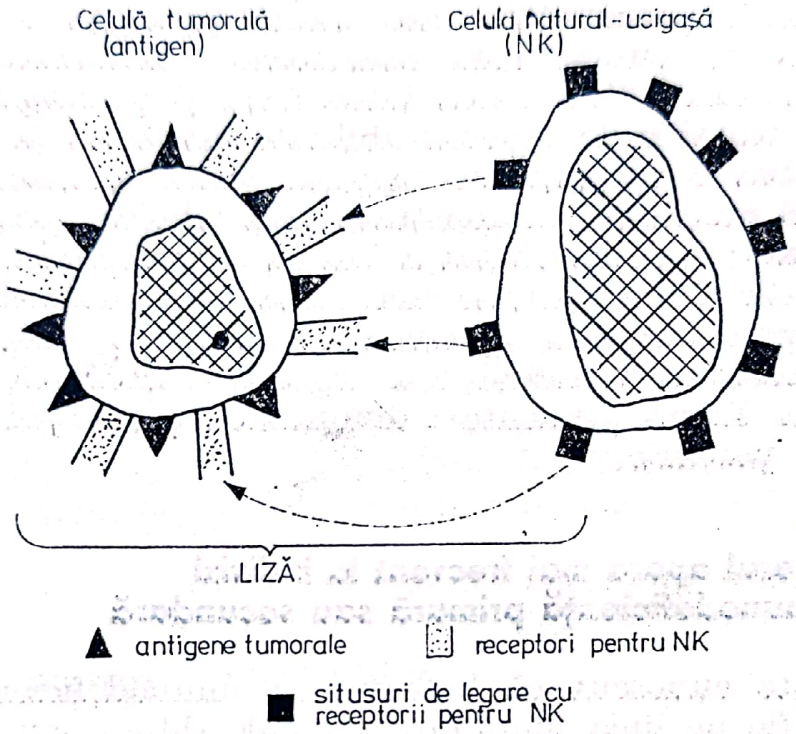


Fig. 33. — Mecanismele activității litice a celulelor natural-ucigașe (*NK*) asupra celulelor tumorale neacoperite de anticorpi.

2.4.3. Relația cancer-imunodeficiență

Se știe de multă vreme că bolnavul canceros are o rezistență scăzută. Bazele științifice ale acestei observații clasice constau în interferențele dintre procesul tumoral și scăderea capacității de răspuns imun.

2.4.3.1. Cancerul induce imunodeficiențe secundare

Procesul de proliferare malignă, angajînd foarte multe forțe ale aparatului imun, conduce implicit la diminuarea capacității de apărare față de alte antigene, cu precădere față de antigenele germe-

nilor infecţioşi. Aşa se explică de ce în cursul evoluţiei bolii maligne, organismul este mai receptiv la infecţii bacteriene şi virale, iar evoluţia acestora este de regulă severă.

În sprijinul acestor argumente clinice, se pot aduce şi următoarele dovezi experimentale care atestă prezenţa unui „status" imunodepresiv în cursul bolii canceroase: întîrzierea respingerii homotransplantelor; diminuarea intensităţii şi prelungirea perioadei de latenţă la reacţiile de hipersensibilitate întîrziată de tip tuberculinic; reducerea capacităţii de răspuns imun secundar *in vitro* a limfocitelor B periferice (demonstrată prin tehnica „plajelor" hemolitice sub agar); hiporeactivitatea imună a limfocitelor T periferice (răspuns blastic de intensitate micşorată la stimularea nespecifică cu fitohemaglutinină sau specifică cu antigene timodependente; negativarea testului de inhibiţie a migrării macrofagelor în prezenţa unor antigene timodependente); diminuarea proporţiei de limfocite T în sîngele periferic.

2.4.3.2. Cancerul apare mai frecvent la indivizi cu imunodeficienţă primară sau secundară

Este îndeobşte cunoscut că bolnavii cu imunodeficienţă primară, congenitală, fie pe linia imunităţii umorale (hipo- sau agamaglobulinemii), fie pe linia imunităţii celulare (prin deficit congenital al celulelor limfocitare T), fac cancer în proporţie mai mare, boala evoluînd mai rapid spre generalizare şi exitus.

2.4.3.3. Rolul imunodeficient al anticorpilor antitumorali facilitanţi

S-a stabilit că în anumite faze ale bolii canceroase şi, în funcţie de tipul tumorii, anticorpii antitumorali limitează capacitatea limfocitelor B sau T antigen-reactive de a recunoaşte antigenele tumorale şi a dezvolta un răspuns imun eficient.

2.4.3.4. Alfafetoproteina

S-a stabilit cu certitudine că în umorile bolnavilor cu cancer creşte concentraţia unei globuline numite alfafetoproteină. Acest factor

Scanned with OKEN Scanner

este prezent în concentrații decelabile numai la făt și la bolnavul adult canceros și are concentrații minime în tumorile adultului sănătos. În afara importanței diagnostice a decelării alfafetoproteinei în serul bolnavilor de cancer, trebuie avut în vedere, în contextul problematicii de față, că alfafetoproteina acționează negativ asupra imunității anticanceroase datorită efectelor sale puternic imunosupresive.

Conchizînd asupra relației cancer-imunodeficiență se impun cîteva sublinieri de ordin practic. De pildă, se știe că în urma exerezei unei tumori, mai aproape sau mai departe de momentul operator, se aplică iradiere pentru limitarea procesului de metastazare. Desigur, acest procedeu este bine intenționat și de regulă și bine condus. Trebuie însă avut în vedere că adăugarea iradierii, ca factor imunosupresiv inerent, celorlalți factori care induc imunodeficiență în cancer, poate să determine efecte paradoxale, diminuînd și mai mult capacitatea de apărare imună a bolnavului, atît orientată spre tumora pe care o poartă, cît și față de alte antigene, în special infecțioase.

2.4.4. Imunoterapia cancerului

Astăzi se pun mari nădejdi în tratamentul de perspectivă al bolii canceroase prin mijloace imunologice. Deși acest capitol de terapie este în stare „embrionară", există numeroase informații experimentale și clinice pledînd în favoarea afirmației că imunoterapia va reprezenta, într-un viitor destul de apropiat, mijlocul de bază în tratamentul bolii canceroase.

2.4.4.1. Antigenul carcinoembrionar cuplat cu virus gripal

S-a stabilit experimental că, prin cuplarea unei celule fetale purtătoare de antigen carcinoembrionar cu virus gripal, imunogenicitatea antigenului carcinoembrionar crește foarte mult. Aceasta oferă unele perspective, deloc din domeniul speculației, asupra folosirii eventuale a acestui model în vederea obținerii unui vaccin antitumoral.

Scanned with OKEN Scanner

2.4.4.2. Administrarea de imunoadjuvanți

În domeniul stimulării imunității anticanceroase prin imunoadjuvanți, datele sînt mult mai concrete și mai încurajatoare. Se știe astăzi, din informații experimentale și clinice neîndoioase, că vaccinul BCG, precum și tulpina nepatogenă de Corynebacterium parvum acționează eficient ca imunoadjuvanți stimulînd capacitatea imună antitumorală a organismului, în special în fazele incipiente ale bolii. Acești imunoadjuvanți bacterieni recunosc ca mecanism intim stimularea limfocitelor T ajutătoare, a macrofagelor, precum și a limfocitelor B antigen-reactive.

2.4.4.3. Administrarea de interferon

Se acordă astăzi de asemenea un credit major administrării interferonului de tip I sau II (imun-interferon), în tratamentul sau prevenirea cancerului. Această acțiune inhibitoare a interferonului asupra procesului de proliferare malignă se datorește potențării majore prin această substanță a activității celulelor K, NK și NC. Din această constatare rezultă odată mai mult însemnătatea pe care bariera NK—NC o are în reducerea proliferării maligne în organism.

2.4.5. Concluzii

Din cele expuse rezultă cîteva considerații de ordin teoretic și practic necesare evaluării obiective și în interesul bolnavului a imunității din cancer.

O primă subliniere se referă la faptul că imunitatea anticanceroasă, în pofida mijloacelor ei deosebit de fine și de prompte, acționează de regulă ineficient sau este depășită, pe de o parte datorită dezvoltării în ritm intens a complexului de proliferare malignă și invadare a diferitelor zone ale organismului, iar pe de altă parte stării de imunodeficiență prezentă în tot timpul evoluției acestei boli.

În al doilea rînd, se impune aprecierea particularizată la fiecare bolnav în funcție de constituția lui, tipul de tumoră și stadiul de evoluție a afecțiunii, a posibilităților de apărare imună, în scopul modelării și eventual a activării acestora. În acest context, trebuie

Scanned with OKEN Scanner

reținut în special că bariera NK și NC este deosebit de eficientă în fazele incipiente ale bolii canceroase. De asemenea, nu este de neglijat faptul că imunitatea celulară este primordială și că în orice atitudine imunoterapeutică trebuie să se pună în primul rînd problema stimulării sistemului timodependent limfocitar. Legat de aceasta, nu trebuie uitat că imunitatea prin anticorpi poate fi eficientă în anumite momente ale evoluției cancerului dar, din nefericire, în alte momente ea poate fi paradoxal inhibitoare prin mascarea antigenelor tumorale, ceea ce duce implicit la favorizarea generalizării procesului tumoral.

Cele cîteva considerații anterioare privind imunoterapia cancerului accentuează o dată mai mult, creditul justificat care se acordă în perspectivă mijloacelor imunoterapeutice în rezolvarea acestei boli în fața căreia medicina actuală rămîne încă în mare măsură dezarmată.

Scanned with OKEN Scanner

3. ADDENDUM TEHNIC METODOLOGIE ŞI INTERPRETARE

3.1. Tehnici de separare a celulelor implicate în răspunsul imun

3.1.1. Separarea amestecului de limfocite T+B prin tehnica centrifugării în gradient de densitate (adaptare după Boyum, 1968)

Într-o seringă sterilă de 10 ml se aspiră conţinutul unei fiole de heparină care apoi este eliminat prin exprimarea cu pistonul seringii, astfel încît pereţii interiori ai acesteia să rămînă uşor umectaţi cu substanţă. Se recoltează steril prin puncţie venoasă o cantitate de 10 ml sînge periferic. Imediat după recoltare se imprimă seringii cîteva mişcări de agitare pentru omogenizarea conţinutului, după care conţinutul seringii este introdus într-o eprubetă sterilă.

Eprubeta se lasă în repaus timp de 15—30 minute pînă la separarea a două straturi : un strat superior (conţinînd plasmă şi leucocite) şi un strat inferior (conţinînd masa eritrocitară).

Se recoltează steril cu o pipetă cu vîrful foarte bine efilat stratul superior şi se decantează într-o altă eprubetă sterilă.

Suspensia leucocitară este supusă centrifugării la 800 rpm (centrifugă Janetzki K70), timp de 5 minute.

Se îndepărtează supernatantul, iar sedimentul se reia cu o cantitate echivalentă volumului iniţial de mediu IC-65, suplimentat cu ser de viţel 10 %.

Se recentrifughează în aceleaşi condiţii, iar cel de-al 2-lea sediment se reia cu un volum de mediu IC-65 în amestec cu heparină (1 fiolă heparină la 100 ml mediu IC-65 fără ser).

Scanned with OKEN Scanner

Se tratează suspensia celulară cu un amestec de separare Ficoll-Paque (Pharmacia — Uppsala, Suedia), astfel : într-o cupă de centrifugă de 20 ml se pipetează direct din flaconul original 2,5 ml amestec Ficoll-Paque ; se adaugă încet 10 ml suspensie celulară în mediu cu heparină, prin prelingere cu pipeta pe pereții cupei, pentru evitarea amestecării celor două straturi.

Se centrifughează timp de 30 minute la 2 300 rpm (centrifugă Janetzki E70).

Se observă straturile formate : superior — trombocite ; mijlociu — inel de limfocite T+B ; inferior — granulocite, macrofage și urme de eritrocite.

Se prelevează stratul (inelul) limfocitar, astfel : se aspiră stratul superior cu o pipetă adaptată la o trompă de vid. În continuare, cu ajutorul unei pipete cu pară se prelevează ușor inelul mijlociu care conține limfocite și se trece în condiții sterile într-un alt recipient.

Suspensia de limfocite este spălată prin adăugare de echivolum de amestec mediu IC-65 cu heparină ; urmează omogenizare, centrifugare timp de 10 minute la 1 300 rpm, îndepărtarea supernatantului, reluarea sedimentului cu mediu IC-65 fără ser la volumul inițial, omogenizare, recentrifugare.

Se ajustează concentrația celulară finală prin reluarea ultimului sediment cu mediu IC-65 fără ser la un volum ales arbitrar (de regulă de 5 ori mai mare decît volumul inițial al suspensiei) și se efectuează două operații pentru evaluarea concentrației de celule :

— numărarea celulelor la o cameră de numărat de tip Bürker-Türck ;

— efectuarea testului de viabilitate prin excluzia colorantului : se prelevează 0,9 ml suspensie celulară la care se adaugă într-un recipient separat 0,1 ml soluție albastru tripan. În acest fel se realizează o concentrație finală a colorantului de 0,05 %. Amestecul este incubat timp de 5 minute la temperatura camerei după care se apreciază microscopic la camera Bürker-Türck proporția de celule vii (necolorate) în raport cu celulele moarte (colorate).

Coroborînd cele două rezultate se află concentrația de celule vii/ml și se ajustează prin diluție la valoarea de $5-10 \times 10^6$ celule vii/ml.

Scanned with OKEN Scanner

3.1.2. Separarea populațiilor și subpopulațiilor limfocitare

3.1.2.1. Tehnica de filtrare pe vată de nailon pentru separarea limfocitelor T și B

Suspensia de limfocite T+B obținută prin centrifugare în gradient de densitate (vezi punctul 3.1.1) este aspirată într-o seringă de 10 ml care conține vată de nailon în strat de aproximativ 3—4 cm, ușor afînat, pînă la umezirea întregului strat de vată. Se incubează timp de 30 de minute seringa la 37°C. După incubare, se exprimă ușor stratul de vată prin împingerea pistonului pentru obținerea celulelor neaderente (limfocite T), care sînt recoltate în alt vas steril. Restul de celule, aderente la vata de nailon (limfocite B), sînt eluate prin trecerea ulterioară cu presiune a 20 ml mediu IC-65 încălzit la 37°C prin stratul cu vată a seringii. Concentrația limfocitelor T și B este ajustată separat, după centrifugarea fiecărui eșantion la 1300 rpm timp de 10 minute și reluarea sedimentului în mediu IC-65, suplimentat cu 10 % ser viței, astfel încît să se obțină o concentrație optimă de $1—3 \times 10^6$ celule/ml.

3.1.2.2. Separarea și obținerea limfocitelor T totale prin tehnica rozetării T de mică afinitate (tehnică standardizată de către Comisia națională de imunologie)

Proba de amestec de limfocite T+B obținută prin centrifugare în gradient de densitate (vezi punctul 3.1.1) este tratată astfel:

Într-un tubușor de plastic (10 cm înălțime; 1 cm ∅), se pun: 0,1 ml amestec limfocitar în concentrație de 4×10^6 celule/ml; 0,2 ml ser fetal bovin; 0,2 ml suspensie eritrocite de berbec 1,5 %. Se incubează timp de 5 minute la 37°C. Se centrifughează la 800 rpm (centrifugă Janetzki K 70) timp de 10 minute la rece (4°C). Se incubează la 4°C timp de 18 ore. Se rotește ușor tubușorul pentru omogenizare. Se adaugă 0,1 ml alcool metilic pentru fixare (1 min). Se adaugă 0,1 ml soluție Giemsa mamă pentru colorare (2 minute). Se pune o picătură din suspensie pe o lamă de microscop, se aplică o lamelă și se citește la microscop (oc. 10×; ob. 20×). Se apreciază la un total de 250 limfocite examinate proporția de celule *rozetate* (care prezintă cel puțin trei eritrocite atașate pe suprafață).

Scanned with OKEN Scanner

3.1.2.3. Separarea și obținerea subpopulației de limfocite T ajutătoare prin tehnica de rozetare E de mare afinitate (tehnică standardizată de Comisia națională de imunologie)

Tehnica este similară rozetării de mică afinitate (vezi mai sus punctul 3.1.2.2) cu următoarele modificări :

Se folosește o suspensie de eritrocite mai diluată (0,5 %). Amestecul limfocite-eritrocite se incubează (după centrifugare) numai timp de 60 minute la 29°C, apoi se citește proporția de limfocite rozetate.

Dacă dorim să obținem subpopulația de limfocite T ajutătoare în vederea unui test funcțional, se pot îndepărta eritrocitele de pe suprafața celulelor limfocitare Th, astfel : se centrifughează timp de 5 minute la 800 rmp ; se îndepărtează supernatantul ; se tratează sedimentul cu apă distilată sterilă 5 secunde (1 volum celule la 1 volum apă), realizîndu-se un șoc hemolitic ; se centrifughează timp de 5 minute la 800 rpm ; se reia sedimentul cu mediu IC-65 conținînd 10 % ser vițel și se ajustează concentrația celulară la valorile dorite (tehnică adaptată).

Valorile normale ale proporției de limfocite T totale și T ajutătoare : limfocite T totale = 70,00 ± 10 % ; limfocite T ajutătoare = 50,00 ± 5 %.

3.1.2.4. Modificări ale proporției de limfocite T totale și T ajutătoare în diferite afecțiuni umane (sînge periferic)

3.1.2.4.1. Scăderea proporției de limfocite T totale și T ajutătoare

a) Imunodeficiențe primare

Pe linie celulară : hipoplazie timică congenitală (sindromul Di George).

Pe linie mixtă : (asociere cu scăderea proporției de limfocite B periferice) : sindromul Wiscott-Aldrich, sindromul Nezelof, ataxie, telangiectazie.

b) *Imunodeficiențe secundare*

—Infecții *bacteriene* : lepră (forma lepromatoasă), tuberculoză (fazele anergice sau în asociere cu subnutriție).

— Infecţii *virale* : acute (gripă, rujeolă) sau persistente (panencefalita sclerozantă subacută demielinizantă cu virus rujeolic, hepatită cronică persistentă după hepatită virală B, rubeolă, infecţie cu virus citomegalic).

— Infestaţii *parazitare* : malarie, leishmanioză, tripanosomiază, schistosomiază, toxoplasmoză, trichineloză.

— Malnutriţie.

Modificarea proporţiei de limfocite T ajutătoare/limfocite T supresoare, cu predominanţa limfocitelor T ajutătoare are loc în : lupus eritematos diseminat, hepatită cronică agresivă (după hepatită virală B), panencefalită sclerozantă subacută demielinizantă cu virus rujeolic, poliartrită cronică evolutivă (inconstant), trombocitopenie autoimună, dermatomiozită endocrinopatii complexe : hipocorticism (Addison) plus hipotiroidie ; hipocorticism (Addison) plus hipotiroidie plus hipogonadism.

Scăderea proporţiei de limfocite T totale, fără modificarea raportului limfocite T ajutătoare/limfocite T supresoare are loc în amiloidoză.

Scanned with OKEN Scanner

3.2. TESTE DE IMUNITATE UMORALĂ

3.2.1. Imunoelectroforeza

Noi folosim metoda Grabar-Williams cu unele modificări.

Principiu. IEF are la bază separarea electroforetică a proteinelor în gel de agar, fracționare cuplată cu precipitarea diferitelor fracțiuni de ser anti-om.

Material: redresor, camera de electroforeză cu sistem de răcire tip IMF Cluj, cameră umedă reglabilă, bulă de nivel, ștanțe inox (circulare, dreptunghiulare), șablon, micropipetă Hagedorn, lame 4/16 cm;

Reactivi: Agar Noble Difco, medinal, veronal, fenosept, produsul biologic, ser antiproteină umană mono- și polispecific, ser fiziologic, alcool 60%, azocarmin, apă bidistilată, acid acetic glacial, glicerină, acetat de Na.

Metodă. Se practică degresarea cu alcool 60% a lamelor și se numerotează.

Se dizolvă la cald (fierbere) agar 1,5 %, în soluție tampon pH = 8,6 (medinal 10,3 g — veronal 1,84 g, 1000 ml H_2O bidistilată), adăugîndu-se 2,5 g fenosept. Se filtrează și se repartizează în eprubete sterile, în cantitățile necesare pentru efectuarea probelor pe o anumită perioadă de timp.

Lamele se așază pe un plan orizontal, acoperindu-se fiecare lamă cu un strat de gel topit cu grosimea de 0,2 cm (16 ml gel). Se lasă la temperatura camerei 30 minute pînă la completa solidificare a gelului.

Scanned with OKEN Scanner

Se pune lama pe un şablon şi cu ajutorul ştanţei circulare se execută 2 godeuri cu diametrul de 0,3 cm, centrate la 0,5 cm distanţă de linia mediană a lamei. Pentru un studiu complet, pe aceeaşi lamă se distribuie paralel produsul biologic de analizat şi serul martor cîte 0,05 ml cu micropipeta Hagedorn. În cuve se introduce soluţie tampon veronal pH 8,6. Se folosesc electrozi de Pt.

Lamele astfel pregătite sînt supuse migrării electroforetice 8 ore, aplicînd 1,6 mA/cm lăţime de lamă. Legătura între lame şi soluţia tampon se face cu benzi de hîrtie Whatman a căror lăţime nu trebuie să depăşească lăţimea lamei. După migrare se practică în mijlocul lamei un şanţ longitudinal (după şablon), în care se introduc 0,6 ml ser antiproteină umană.

Lamele sînt introduse în camera umedă pentru imunoprecipitare timp de 24—72 ore. În acest timp reacţia antigen-anticorp are loc şi se manifestă prin apariţia unor arcuri de precipitare. Pentru dializa proteinelor nespecifice se introduc lamele într-o baie cu ser fiziologic 48—72 ore, schimbîndu-se soluţia de 2 ori/zi.

După 2—3 zile se scot lamele, îndepărtîndu-se excesul de soluţie prin tamponare cu hîrtie de filtru (24 ore). Se usucă lamele la pupinel cca 60—70°C timp de 10 minute. Se colorează cu soluţie : azocarmin 1 g, acid acetic glacial 28,2 ml, acetat de Na 30,69 g, glicerină 100 ml, apă ad 1 000 ml, timp de 3 ore. Se spală lamele cu soluţie de acid acetic 2 %. Se face compararea cu proba martor.

3.2.2. Imunodifuzia radială simplă (IDRS) (metodă adoptată după Mancini, Carbonara, Heremans de dr. Maria Scheau, Spitalul clinic nr. 1, Craiova)

Principiu : Concentraţia proteinei care difuzează într-un strat de gel de agar ce conţine imunoserul monospecific corespunzător este direct proporţională cu diametrul zonei de precipitare.

Material: imunoplăci, ser de referinţă (uman), H_2O distilată (fiole), produsul biologic, micropipete Hagedorn, termostat, riglă gradată transparentă.

Metoda : se numerotează godeurile pe o schiţă. După îndepărtarea peliculei plastice şi a lichidului de condensare, se introduc în cele

Scanned with OKEN Scanner

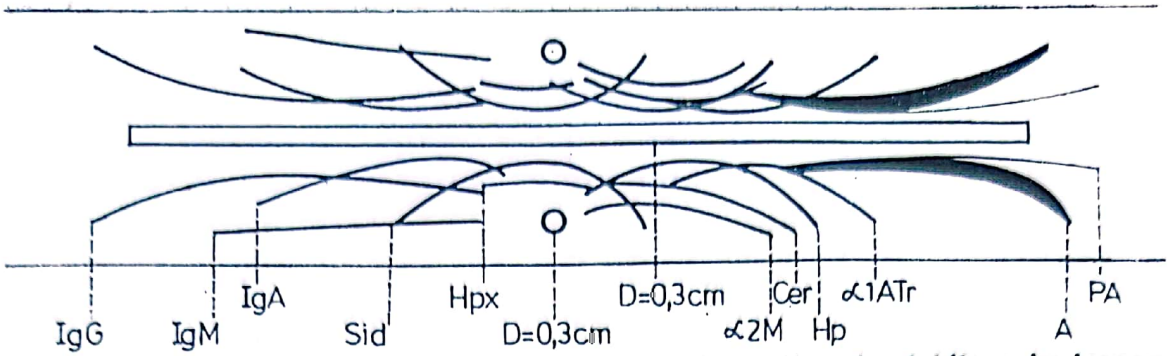


Fig. 34. — Principalele fracţiuni de proteine plasmatice decelabile prin imunoelectroforeză. *PA*, prealbumină; *A*, albumină; *α1ATr*, α-1-antitripsină; *Cer*, ceruloplasmină; *Hp*, haptoglobină; *α2M*, α-2-macroglobulină; *Hpx*, hemopexină; *Sid*- siderofilină.

Fig. 35. — Imunoelectroforeză umană normală (fotopreparat).

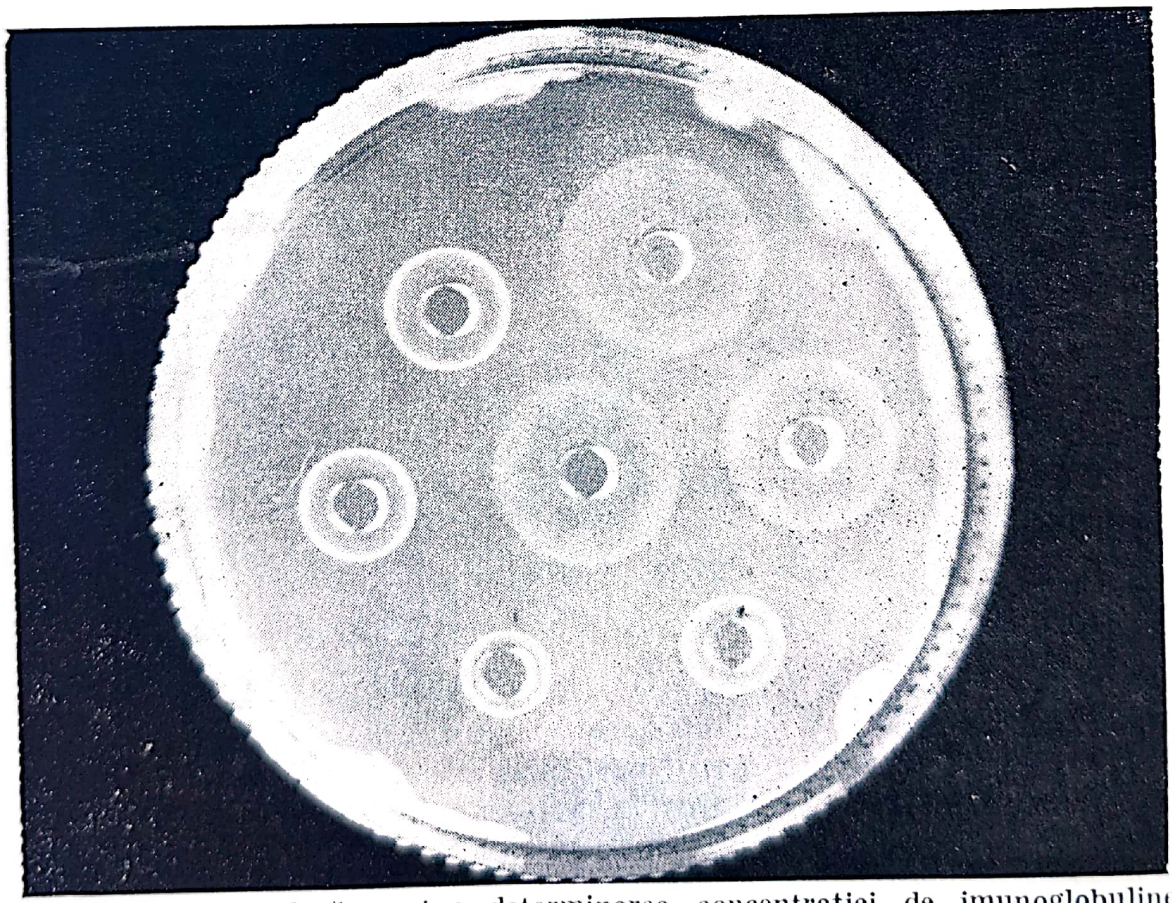


Fig. 36. — Imunoplacă pentru determinarea concentraţiei de imunoglobuline plasmatice prin imunodifuzie radială Mancini (fotopreparat).

Scanned with OKEN Scanner

șase godeuri periferice 0,005 ml produs biologic cu micropipeta Hagedorn, iar în godeul central se introduc 0,005 ml din serul uman de referință. Se închide imunoplaca și se incubează la 37°C, timpul fiind în funcție de imunoser (24 ore pentru IgA, IgM, complement, siderofilină și 4 ore pentru IgG și albumină).

Diametrele zonelor de precipitare se citesc cu o riglă gradată transparentă și se caută valoarea corespunzătoare din tabel. Diametrele zonelor de precipitare pentru serul uman de referință IC sînt: 8 mm pentru IgA, 7 mm pentru IgG și 6 mm pentru IgM.

Valorile normale pentru proteinele serice: IgA = 70—250 UI/ml; IgG = 100—200 UI/ml; IgM = 100—200 UI/ml. Pentru complementul seric (C_3): 55—120 mg% ml.

Corespondența între UI/ml și mg % ml ser pentru IgA, IgG, IgM se obține multiplicînd valoarea UI/ml cu 1,42 pentru IgA, cu 8,04 pentru IgG și cu 0,847 pentru IgM. Astfel, corespondența este următoarea: 100 UI/ml IgG corespund la ~ 800 mg/100 ml; 100 UI/ml IgA la ~ 140 mg/100 ml și 100 UI/ml IgM la ~ 80 mg/100 ml.

3.2.3. Complexe imune circulante

(tehnică adoptată de Suzana Rogoz și Maria Scheau, Spitalul clinic nr. 1, Craiova)

Principiu: complexele imune circulante se precipită cu polietilen glicol, în tampon borat și se determină spectrofotometric la 450 nm.

Reactivi: tampon borat [acid boric 0,1M (6,18 g), tetraborat disodic 25 mM (9,53 g), natriu clorat 75 mM (4,38 g), H_2O ad 1 000 ml] și soluție de polietilen glicol (PEG 6000) (se obține dizolvînd 3,75 g polietilen glicol în 1 000 ml soluție tampon I).

Tehnica: se prelevează 0,1 ml din serul de cercetat și se pune într-o eprubetă, peste care se adaugă 2,9 ml PEG-soluție și se agită ușor. Se lasă proba 1 oră latemperatura camerei. Se introduce proba în cuva de 1 cmc și se citește extincția la Spekol — 450 nm.

Scanned with OKEN Scanner

Rezultat: normal 0—0,07, patologic peste 0,07.

Prezența complexelor imune circulante în diferite afecțiuni umane

— *Față de antigene endogene* (asociere cu boli autoimune): artrită reumatoidă, lupus eritematos diseminat, purpură hipergamaglobulinemică, tumori, alte boli autoimune.

— *Față de antigene exogene*: iatrogene (boala serului, alergii medicamentoase), din mediul ambiant [alveolită alergică extrinsecă (prin inhalare); dermatită herpetiformă (prin ingestie)], de natură infecțioasă [*virală* (hepatita B (HBsAg); febra hemoragică Dengue), *bacteriană* (glomerulonefrita poststreptococică, lepră, reumatism articular acut, glomerulonefrită asociată cu endocardită), *parazitară* (malarie, tripanosomiază, schistosomiază, oncocercoză)].

— *Față de antigene necunoscute*: glomerulonefrită cronică prin complexe imune, vasculită cu sau fără eozinofilie, pneumonie interstițială difuză, urticarie.

3.2.4. Determinarea crioglobulinemiei (tehnică uzuală)

Crioglobulinele, prezente într-o mare varietate de situații clinice, sînt imunoglobuline serice care precipită reversibil la rece.

Purificarea și analiza imunochimică a permis clasificarea lor în trei tipuri: tipul I: crioglobuline formate dintr-o singură imunoglobulină monoclonală; tipul II: crioglobuline mixte (o imunoglobulină monoclonală cu activitate anticorpică împotriva unei imunoglobuline policlonale); tipul III: crioglobuline policlonale mixte.

Procedeul tehnic pentru izolare și analiză se bazează pe două condiții esențiale pentru a obține un rezultat corect: pe de o parte, recoltarea să se facă la cald, iar pe de altă parte, serul să fie ținut la rece un timp suficient pentru ca toate crioglobulinele să precipite (24—72 ore).

Scanned with OKEN Scanner

Tehnica: se recoltează 8—10 ml sînge cu seringa încălzită, în eprubetă caldă ţinută la 37°C înainte de recoltare). Se pune imediat eprubeta la termostat (37°C) şi se ţine 1 oră, în aşa fel încît coagularea să se producă la cald.

Serul este separat prin centrifugare şi apoi păstrat în frigider la 4°C. Cînd crioglobulinele sînt prezente, apare un precipitat sau un gel în ser după o perioadă variabilă, de obicei după 24—72 ore.

Reversibilitatea crioprecipitării trebuie testată prin reîncălzirea serului precipitat. Cantitatea de crioprecipitat poate fi determinată în diferite moduri. Centrifugarea serului total într-un tub de hematocrit la 4°C permite determinarea relativă a cantităţii de crioglobuline (criocrit). Concentraţia proteică a serului poate fi comparată înainte şi după crioprecipitare.

După izolarea şi spălarea precipitatului, componentele crioglobulinelor sînt identificate prin imunoelectroforeză sau dublă difuzie. Acestea sînt realizate la 37°C, folosind antiser faţă de serul uman total şi specific pentru lanţurile γ, α, μ, K şi λ. În acest mod crioglobulinele pot fi clasificate în cele 3 tipuri. Crioglobulinele de tip I şi II sînt prezente în cantităţi mari în ser (peste 5 mg/ml). În general sînt întîlnite la pacienţii cu paraproteinemie monoclonală (limfom sau mielom multiplu). Tipul III arată prezenţa complexelor imune circulante şi sînt rezultatul răspunsului imun la diferite antigene. Sînt prezente în concentraţii relativ scăzute (mai puţin de 1 mg/ml), în boli reumatoide şi infecţii cronice.

Toate tipurile de crioglobuline pot fi responsabile de simptomele specifice care apar ca rezultat al schimbărilor în crioglobuline produse prin expunerea la frig. Simptomele includ sindromul Raynaud, purpura vasculară, tendinţe la hemoragii, urticaria la rece şi chiar tromboze arteriale distale cu gangrene.

Deoarece tipurile II şi III de crioglobuline sînt complexe imune solubile circulante, ele pot fi asociate cu sindroame asemănătoare bolii serului, caracterizate prin poliartrite, vasculite, glomerulonefrite sau simptome neurologice.

La bolnavii cu crioglobulinemie mixtă esenţială IgM-IgG, poate să apară un sindrom distinct asociat cu artralgii, purpură, slăbiciune şi frecvent limfadenopatie sau hepatosplenomegalie. Sindromul poate reflecta o sechelă de hepatită virală B sau o glomerulonefrită.

Scanned with OKEN Scanner

Clasificarea tipurilor de crioglobuline și bolile asociate sînt date în continuare într-un tabel :

Tip de crioglobulină	Compoziția imunochimică	Bolile asociate
Tipul I Crioglobulină monoclonală	IgM IgG IgA Proteina Bence-Jones	Mielom multiplu Macroglobulinemia Waldenström Leucemia limfocitară cronică
Tipul II Crioglobuline mixte	IgM—IgG IgG—IgG IgA—IgG	Artrită reumatoidă Sindrom Sjögren Crioglobulinemia esențială mixtă
Tipul III Crioglobuline policlonale mixte	IgM—IgG IgM—IgG—IgA	Lupus eritematos diseminat Artrită reumatoidă Sindrom Sjögren Mononucleoză infecțioasă Infecție cu citomegalovirus Hepatită acută virală Hepatită cronică activă Ciroză biliară primară Glomerulonefrită poststreptococică Endocardită infecțioasă Lepră Kala-azar Sindrom tropical splenomegalic

3.2.5. Testul antiglobulinic Coombs (tehnică uzuală adoptată de Maria Toader, Spitalul clinic nr. 1, Craiova)

Principiu : testul Coombs se bazează pe proprietatea anticorpilor incompleți de a se fixa pe eritrocite, fără să producă aglutinarea lor ; eritrocitele sînt învelite cu acești anticorpi, după care sînt apoi aglutinate cu un ser dotat cu acțiune antiglobulină umană. Serul antiglobulină umană se obține prin imunizarea animalelor (iepuri, capre, cal) cu ser uman total sau imunoglobuline umane pure.

Scanned with OKEN Scanner

Testul antiglobulinic a fost descris de Coombs, Mourant și Race în 1945, fiind folosit numai pentru depistarea anticorpilor incompleți IgG, anti-Rh. Ulterior testul a fost îmbunătățit, fiind folosit pentru decelarea anticorpilor atît gamaglobulinici (IgG, IgM, IgA), cît și nongama-C:(C'_1, C_3' și E_1', C_4').

Testul Coombs se efectuează la cald —37°C și la rece. Se folosește pentru decelarea anticorpilor pe eritrocit (test Coombs direct) și în ser (test Coombs indirect).

Material și metodă

— *Serul antiglobulinic*: ser antiglobulină umană total (polivalent) și seruri monospecifice: anti IgG, IgM, IgA și C_3, furnizate de Institutul Cantacuzino, sub formă liofilizată în fiole a 1 ml;

— *eritrocite*, provenite de la bolnavi și donatori grup 0(I) (D^+) și (D^-), obținute din sînge recoltat pe soluție de citrat trisodic 3,8% în proporție de o parte anticoagulant cu 9 părți sînge;

— *seruri* de la bolnavi obținute din 5 ml sînge, menținut după recoltare 60′ la 37°C și centrifugat apoi 5′ la 2 500 rpm;

— *ser de donator grup AB(IV)* obținut de la Centrul de recoltare a sîngelui;

— *serul anti-Rh (D^+)*, de la Centrul de recoltare a sîngelui;

— *papaină*, sub formă cisteinată și liofilizată în volum de 2 ml;

— soluția salină NaCl 8,5 $^0/_{00}$, folosită pentru spălarea eritrocitelor, diluarea serurilor și efectuarea suspensiilor de eritrocite;

— apă distilată.

a) Testul Coombs direct

— *Serul antiglobulinic* se dizolvă în 1 ml apă distilată, după care se fac diluții progresive în ser fiziologic pînă la diluția specificată pe fiolă.

Pentru îndepărtarea acțiunii aglutinante antispecie asupra eritrocitelor umane se poate folosi și metoda adsorbției. Adsorbția serului brut se face cu eritrocite umane de grupă A(II), B(III) și 0(I). Eritrocitele trebuie să fie spălate de 6 ori cu soluție cloruro-sodică izotonică pentru a elimina orice urmă de ser care poate să neutralizeze puterea antiglobulinică a serului.

Scanned with OKEN Scanner

Eritrocitele spălate şi sedimentate se amestecă în părţi egale. Un volum de ser brut, inactivat 30′ la 56°C, se amestecă cu 1/2 volum de eritrocite şi se lasă la temperatura camerei timp de 1 oră, agitînd din cînd în cînd. Apoi se centrifughează puternic şi se separă serul supernatant. Serul astfel adsorbit este gata pentru reacţie, fiind lipsit de puterea heterofilă şi avînd intactă şi nediluată puterea antiglobulinică.

— *Eritrocitele* recoltate de la bolnav se spală de cel puţin trei ori cu ser fiziologic.

Testul Coombs direct se efectuează pe lamă, la temperatura camerei, punîndu-se în contact o picătură mare de ser antiglobulinic total sau monospecific, diluat sau adsorbit, cu o picătură mică aproximativ 1/10 din volumul picăturii de ser de eritrocite de bolnav spălate.

Examinarea se face după 5′ prin înclinarea lamei pe un fond alb, la lumina directă de zi. Dacă apare aglutinarea se dă rezultatul: test Coombs direct pozitiv la diluţia la care apare. Se consideră pozitiv de la diluţia 1/100. Se foloseşte un martor negativ şi un martor pozitiv.

Testul Coombs direct este pozitiv în anemii hemolitice autoimune (AHAI); după tratament de lungă durată cu penicilină, Aldomet (α-metildopa) etc.; în boala hemolitică a noului născut; în transfuzii incompatibile (de exemplu la o femeie care a avut sarcini şi s-a imunizat).

b) Textul Coombs indirect

Pune în evidenţă anticorpii în ser. Cu ajutorul acestui test, trebuie să obţinem *in vitro* ceea ce organismul realizează *in vivo*.

Timpul I: se efectuează sensibilizarea eritrocitelor, în două tuburi de hemoliză. În tubul 1 se adaugă 0,5 ml ser de cercetat. În tubul 2 se adaugă 0,5 ml ser normal. Apoi, în ambele tuburi se adaugă cîte 0,25 ml suspensie de 25% de eritrocite 0(I) Rh pozitive. În final, tuburile se incubează timp de 60′ la 37°C.

Se repetă aceeaşi operaţie şi cu o probă de eritrocite 0(I) Rh negative, ca martor negativ.

Scanned with OKEN Scanner

Timpul II: după incubaţie, eritrocitele din fiecare tub se spală abundent de şase ori cu ser fiziologic, eritrocitele spălate fiind resuspendate aproximativ în suspensie 25 %. Pe o lamă se amestecă o picătură de ser antiglobulinic adsorbit sau diluat cu o picătură de suspensie eritrocitară. Lama se mişcă continuu şi reacţia se citeşte pînă la 3—5 minute.

Rezultate: pot fi întîlnite următoarele situaţii:

— Aglutinare cu eritrocitele care provin din tubul 1 şi absenţa aglutinării cu eritrocitele din tubul 1; s-au fixat anticorpii, deci serul de cercetat conţine anticorpi neregulaţi, anti-Rh.

— Lipsă de aglutinare în ambele probe; serul de cercetat nu conţine anticorpi neregulaţi. Eritrocitele din tubul 2, precum şi cele Rh-negative nu trebuie să dea aglutinare.

Un rezultat pozitiv este concludent; un rezultat negativ nu este sigur, de aceea se recurge la teste cu enzime: papaină, tripsină, bromelină etc.

În laborator se foloseşte papaina.

c) Textul papainat

Cercetarea calitativă a serului. Se repartizează cîte două picături de ser fiziologic în două eprubete pentru fiecare bolnav. Se adaugă două picături de ser de bolnav în fiecare eprubetă diluţie 1/2. Se adaugă într-o eprubetă o picătură de eritrocite $0_{(I)}$ Rh pozitiv-papainate suspensie 2—3 % în ser fiziologic. În cealaltă eprubetă se adaugă o picătură eritrocite $0_{(I)}$ Rh negativ-papainate suspensie 2 — 3 %. Se agită. Se incubează 60′ la 37°C. Se citeşte cu ochiul liber prezenţa sau absenţa aglutinării. Cînd reacţia este **pozitivă** se face *titrarea anticorpilor*. Se fac diluţii seriate din 2 în 2 **minute**. Se adaugă în toate eprubetele cîte o picătură eritrocite papainate suspensie 2—3 %. Se pun la termostat o oră. Se citeşte titrul aglutinării.

Papainarea eritrocitelor. Se foloseşte papaină cisteinată liofilizată. Se dizolvă în 2 ml apă distilată. Se ia un sediment gros de eritrocite şi se lucrează: 1 volum eritrocite + 1 volum papaină. Se omogenizează. Se pun la termostat 37°C timp de 10 minute. Se scot de la termostat; se spală o singură dată. Se face suspensie în ser fiziologic 2—3 %. Se folosesc eritrocite $0_{(I)}$ Rh + şi $0_{(I)}$ Rh —.

Eritrocitele astfel papainate se folosesc pentru titrarea anticorpilor. Titrul este dat de ultima diluţie unde apare aglutinare.

Test Coombs direct papainat (în tub). Într-o eprubetă se pune o picătură eritrocite de la bolnav şi o picătură papaină. 10 minute la termostat. Spălare o singură dată. Se aruncă supernatantul, se face suspensie 2%.

Într-o altă eprubetă se pun: 2 picături ser fiziologic, o picătură ser AB (IV) şi o picătură suspensie de eritrocite papainate ale bolnavului. Se ţine o oră la 37°C. Se citeşte prezenţa sau absenţa aglutinării.

Aglutinine la rece. Se pun trei şiruri de eprubete în care se repartizează ser fiziologic 0,2 ml. În prima eprubetă se adaugă ser de bolnav şi se fac diluţii seriale. Se adaugă apoi eritrocite: în primul şir se adaugă eritrocite 0(I), suspensie 4—5 %; în al doilea şir se adaugă eritrocitele proprii ale bolnavului, o picătură în toate eprubetele; în al treilea şir se pun eritrocite 0(I), din cordon ombilical. Se incubează la 4°C de la 2 la 24 ore.

Citirea: ultima eprubetă unde apare aglutinarea reprezintă titrul anticorpilor. Primul şir arată prezenţa aglutininelor la rece faţă de eritrocite de adult; al doilea şir arată caracterul auto- al aglutininelor; al treilea şir, dacă nu aglutinează, sînt anti-0(I).

Pentru efectuarea testului Coombs la rece condiţia esenţială este ca recoltarea să se facă la cald şi spălările eritrocitelor cu ser fiziologic cald.

Concluzii

Testul antiglobulinic Coombs este un test de diagnostic. El are valoare diagnostică în AHAI la cald şi la rece, cu anticorpi de tip gamaglobulinic şi nongamaglobulinic (complement). Acest test prezintă următoarele calităţi:

— permite identificarea anticorpilor în sistemul imunoglobulinelor şi al complementului, precum şi în sistemul Rh şi al grupelor sanguine;

— se foloseşte pentru urmărirea răspunsului la tratament — în AHAI — a evoluţiei şi prognosticului în AHAI;

— permite diagnosticul în izoimunizare şi în sensibilizarea la diverse droguri.

Scanned with OKEN Scanner

3.2.6. Evidenţierea anticorpilor antinucleari

Tehnica de imunofluorescenţă indirectă (uzuală) (adaptată de Suzana Rogoz, Spitalul Clinic Nr. 1, Craiova)

Principiu : serul de bolnav în care se testează prezenţa anticorpilor antinucleari se pune în contact cu un substrat (specific) pentru fixarea anticorpilor antinucleari pe nucleii celulelor din substrat. Apoi se tratează preparatul cu ser antiglobulină umană marcat cu izotiocromat de fluoresceină şi se vizualizează în UV reacţia antigen-anticorp.

Materialul necesar : microscop binocular, condensator UV, lampă HBO 200 ; filtre, lame, glicerină tamponată, fragmente de ficat de şobolan, ser bolnav, ser fluorescent antigamaglobuline om.

Tehnica de lucru : se execută amprente din fragmente de ficat decongelat (ţinute la —20°C), care se usucă la temperatura camerei. Se pipetează apoi serul de bolnav cît şi un ser martor, în paralel (pe amprente separate).

Lamele astfel tratate sînt menţinute în cameră umedă timp de 20 de minute. Se spală cu atenţie preparatele cu soluţie cloruro-sodică izotonă. Se lasă să se usuce parţial. Urmează acoperirea amprentelor cu una picătură de ser fluorescent antiglobuline umane, diluat conform titrului. Se lasă lamele în cameră umedă 20 de minute. Montarea preparatului se face cu glicerină, aplicînd lamele pe suprafaţele lamelor.

Citirea rezultatelor. Rezultat *negativ* : pe fondul uşor verzui se observă mici zone întunecoase care corespund cu nucleii celulelor. Rezultat *pozitiv :* se constată pe fondul slab verzui apariţia nucleilor cu fluorescenţă strălucitoare. În raport cu intensitatea fluorescenţei, rezultatul se notează de la + pînă la ++++.

Fluorescenţa apare sub diverse aspecte : omogenă (nucleul apare intens şi uniform colorat, este întîlnită de obicei) ; inelară (fluorescenţa maximă se observă la periferia nucleilor) ; pătată (distribuită în grămezi, apare în perioadele de remisiune a bolii lupice) ; nucleolară (localizată la nivelul nucleolilor).

Scanned with OKEN Scanner

Prezența de autoanticorpi serici în diferite afecțiuni umane

Afecțiunea	Antigene proprii implicate	Categorii de autoanticorpi*
Tiroidita autoimună Hashimoto	Țesut tiroidian glandular, tireoglobulină	AMCR, anti-tireoglobulină, anti-extract tiroidian
Anemia hemolitică autoimună	Eritrocite	Antieritrocitari (citotoxici)
Hepatita cronică agresivă postinfecțioasă; ciroză hepatică consecutivă	Ficat, splină, mușchi neted, rinichi	AN, AMN, AMT
Diabet zaharat juvenil	Țesut pancreatic insular	Antițesut insular (citotoxici)
Pancreatită cronică fibroasă	Țesut pancreatic glandular	AN, citotoxici
Anemie biermeriană	Factor intrinsec Castle, celule parietale mucoasă gastrică	Antifactor intrinsec Castle, AMCR
Reumatism articular acut	Fibră musculară cardiacă, mușchi neted, celule sinoviale articulare	AN, AMN, AFMC, AMCR
Artrită reumatoidă	Fibră musculară cardiacă mușchi neted, celule sinoviale articulare, noduli subcutanați, imunoglobuline serice denaturate	AN, AMN, AFMC, AMCR, AMT, anti—IgG_1 denaturată
Sclerodermie, dermatomiozită, sindrom Sjögren	Rinichi, mușchi neted, celule sinoviale articulare, glande salivare	AN, AMN, AMCR, AMT
Lupus eritematos diseminat	Teritorii difuze (cu predominanță: ficat, splină, rinichi, mușchi neted, trombocite, leucocite)	AN, AMN, AMCR, AMT, anti-ADN, anti-ARN, antihistonă, antitrombocitari (citotoxici), antileucocitari (citotoxici)
Trombocitopenia autoimună	Teritorii difuze (cu predominanță: ficat, splină, trombocite)	AN, AMT, antitrombocitari (citotoxici)
Myasthenia gravis	Mușchi neted, timus, tiroidă	AMN, AN, AMCR, AMT, antireceptori acetilcolinici musculari

Afecțiunea	Antigene proprii implicate	Categorii de autoanticorpi*
Scleroză multiplă	Nevrax (substanță albă)	Citotoxici, fixatori de complement
Poliendocrinopatii cu deficiență	Tiroidă, suprarenală, timus	AN, AMN, AMT, AMCR
Uveită	Țesuturi uveale	AN, AMT, AMCR, anticelule uveale (citotoxici)

* AN = antinucleari, AMN = antimușchi neted, AMT = antimitocondriali
AMCR = antimicrozomiali
AFCM = antifibră musculară cardiacă

3.2.7. Testul transformării blastice a limfocitelor B in vitro

Suspensia de limfocite B ca atare (obținută prin procedeul descris mai sus la punctul 3.1.2.1) sau suplimentată în echivolum cu suspensie de limfocite T ajutătoare (obținută după procedeul descris la 3.1.2.3) este împărțită în două eșantioane : o probă nestimulată ; o probă stimulată cu un antigen cunoscut în capacitatea sa de a determina imunitate umorală (exemplu : anatoxina difterică purificată și adsorbită). În cazul probei stimulate, se folosește o rată de 50 unități floculante anatoxină/limfocit reactant.

Ambele probe, în concentrație de $1-5\times10^6$ limfocite/ml în mediu IC-65 suplimentat cu 10% ser de vițel, sînt incubate în recipiente de plastic ermetic închise cu dop de cauciuc atoxic timp de 96 ore la 37°C. După expirarea termenului se adaugă în fiecare probă o soluție de timidină tritiată (methyl—^{3}H—thymidine, Ammersham), soluție standard 0,5 mCi/ml, cu activitatea specifică 7,7 Ci/mM, astfel încît să se obțină o diluție a izotopului de 1 uCi/ml probă. Probele cu izotopi sînt incubate în continuare timp de 2 ore la 37°C după care sînt prelucrate pentru măsurarea radiometrică, după cum urmează :

— spălarea celulelor de 2 ori cu mediu IC-65 fără ser centrifugare la 1300 rpm 10 minute ; reluare sediment ;

Scanned with OKEN Scanner

— tratarea ultimului sediment celular cu amestec acid tricloracetic 5%-acid percloric 2% timp de 30 minute; încălzirea amestecului la 70°C timp de 15 minute; introducerea amestecului în lichid de scintilaţie (amestec PPO/POPOP în toluen şi triton ×1 000);

— măsurarea radioactivităţii la un scintilator pentru radiaţii beta. Rezultatele pot fi exprimate direct în pulsuri radioactive per minut per probă sau, pentru o precizie mai mare, în unităţi relative de ADN (pulsuri per minut raportate la proporţia de ADN/proteina totală din sedimentul celular).

Scanned with OKEN Scanner

3.3. Teste de imunitate celulară

3.3.1. Testul de transformare blastică specifică a limfocitelor T

Suspensia de limfocite T ca atare (vezi punctul 3.1.2.1) sau suplimentate în echivolum cu limfocite T ajutătoare (vezi punctul 3.1.2.3) sînt împărțite în trei eșantioane egale : probe nestimulate ; probe stimulate cu mitogen nespecific (fitohemaglutinină M, Difco Labs, astfel încît să se obțină 0,01 ml substanță rehidratată per ml probă ; probe stimulate cu un antigen cunoscut a determina imunitate celulară ; exemplu : tuberculină produs Institut Cantacuzino, la o rată de 100 u. i. per probă, adică 5×10^{-4} u/limfocit). Probele nestimulate sau stimulate sînt cultivate în mediu IC-65 suplimentat cu 10% ser de viței, timp diferit în recipiente de plastic cu dop atoxic. Incubarea probelor nestimulate sau stimulate cu antigen se face timp de 96 ore la 37°C, iar probele stimulate cu mitogen nespecific (fitohemaglutinină) se incubează 48 ore la 37°C.

După expirarea termenului de incubare se adaugă timidină tritiată și se procedează la prelucrarea lor, conform timpilor descriși la transformarea blastică a limfocitelor T (vezi punctul 3.2.7).

Valori semnificative : — probe nestimulate : sub 50 pulsuri/minut/unități relative ADN ; — probe stimulate cu fitohemaglutinină — M : peste 1 000 pulsuri/minut/unități relative ADN ; — probe stimulate cu antigen : peste 100 pulsuri/minut/unități relative ADN.

Scanned with OKEN Scanner

3.3.2. Testul de inhibiție a migrării macrofagelor (tehnic a tubului capilar, adaptată)

Suspensia leucocitară totală obținută prin recoltarea sîngelui periferic pe urme de heparină (vezi punctul 3.1.1) este spălată prin centrifugare la 1 300 rpm timp de 5 minute și reluată cu mediu IC-65 suplimentat cu ser de vițel 10%, astfel încît să se realizeze o concentrație de 3×10^8 celule/ml (control microscopic prin numărare la camera Bürker-Türck). Suspensia astfel obținută este introdusă în tuburi capilare cu calibru determinat (se pot folosi capilare standard pentru determinarea hematocritului). Suspensia urcă prin capilaritate și astfel foarte lesne se poate astupa unul din capete cu ajutorul unui amestec de oleu de parafină-parafină în proporție de 1 : 1 (preîncălzit la 56°C). Se folosesc, de regulă, 30 capilare pentru fiecare probă testată.

Tuburile capilare se introduc într-o centrifugă cu lăcașuri orizontale (tip hematocrit) și sînt supuse centrifugării la 800 rpm timp de 2 minute.

Se secționează fiecare tub capilar cu ajutorul unei pile de fiole la nivelul interfeței dintre depozitul celular și supernatant.

Capilarele conținînd depozit celular sînt apoi fixate cu amestec parafină-oleu de parafină în poziție orizontală în centrul cîte unei camere de plastic de formă circulară, cu un volum de 0,5 ml.

Cele 30 camere ale unei probe se grupează astfel :

— probă martor (nestimulată) : 10 camere în care se introduc, respectiv, cîte 0,5 ml mediu IC-65 suplimentat cu 10% ser vițel ;

— probă stimulată cu tuberculină : 10 camere în care se introduc respectiv cîte 100 u.i. PPD/0,5 ml mediu.

Urmează ca toate probele stimulate sau nestimulate cu antigen să fie incubate timp de 48 de ore la 37°C în atmosferă de bioxid de carbon (exsicator).

Calcularea indicelui de inhibiție a migrării macrofagelor se efectuează astfel : $IMM = \frac{M_x}{M_0}$, unde : IMM = indicele de inhibiție a migrării macrofagelor M_x = media ariilor de migrare la probele cu antigen (tuberculină) ; M_0 = media ariilor de migrare la probele fără antigen. Se consideră semnificativă (imunitatea celulară prezentă) o valoare mai mică de 0,700. Pentru o corectitudine mai mare se va introduce în calcul și eroarea standard a mediei pentru n = 10.

Scanned with OKEN Scanner

3.3.3. Modificări ale testelor de imunitate celulară (transformarea blastică a limfocitelor T ; inhibiția migrării macrofagelor în diferite afecțiuni umane)

3.3.3.1. Diminuarea răspunsului imun celular

Aici intră : valori reduse ale răspunsului blastic la fitohemaglutinină ; valori reduse ale răspunsului blastic specific față de antigene timodependente standard-tuberculină, Candida ; negativarea indicelui de inhibiție a migrării macrofagelor față de antigene timodependente standard-tuberculină, Candida care se întîlnesc în :

— imunodeficiențe primare pe linie celulară (sindromul de hipoplazie timică congenitală Di George ;

— imunodeficiențe primare pe linie mixtă (umoral-celulară) (sindromul Wiscott-Aldrich ; sindromul Nezelof) ;

— imunodeficiențe secundare : malarie, oncocercoză, tripanosomiază, lepră (forma lepromatoasă) ; tuberculoză (forma miliară sau faza cu caverne, anergică) ; sifilis (faza secundară), rujeolă, malnutriție ; tumori.

3.3.3.2. Răspuns imun celular patologic față de autoantigene

Valori semnificative ale răspunsului blastic specific și pozitivarea indicelui de inhibiție a migrării macrofagelor se întîlnesc :

— față de antigene pancreatice (țesut insulinic) : în diabetul zaharat juvenil ;

— față de factorul intrinsec Castle sau alte antigene de țesut gastric : în anemia biermeriană ;

— față de tireoglobulină, extracte tiroidiene sau microzomi tiroidieni : în tiroidita autoimună Hashimoto.

Scanned with OKEN Scanner

BIBLIOGRAFIE

ABLET J. G., MC CANCE R. A., Lancet, 1971, 2517.

ADAM M., *Sistemul imunitar la copil. Condiții normale și patologice.* In : *Tendințe moderne pediatrie* (sub red. M. O. Maiorescu), Edit. medicală, București, 1982.

ALBERT E., GOETZE D., *The major histocompatibility system in man.* In : *Histocompatibility Antigens* (ed. Goetze E.), Springer-Verlag, 1978, pp. 7—38.

ALEXANDER J. W., *Effect of thermal injury upon early resistance to infection,* J. Surg. Res., 1968, *8*, 128.

ALEXANDER J. W., MONCRIEFF J. A., *Immunologic phenomena in burn injuries,* J.A.M.A., 1967, *199*, 257 .

ALEXANDER J. W., HEGG M., ALTMEIER W. A., *Neutrophil function in selected surgical disorders.* Ann. Surg., 1968, *168*, 447.

ALEXANDER J. W., GOOD R. A., *Immunology for Surgeons,* W. B. Saunders, Philadelphia—London—Toronto, 1970.

ALEXANDER J. W., DIONIGI R., MEAKINS J. L., *Periodic variation in the antibacterial function of human neutrophils and its relationship to sepsis,* Ann. Surg., 1971, *173*, 206.

ALEXANDER P., ECCLES S. A., GAUCI C. L., *The significance of macrophages in human and experimental tumors,* Ann. N. Y. Acad. Sci., 1976, *276*, 124.

ALLISON A. C., *Immunological Surveillance Against Tumor Cells.* In : *Cancer. A. Comprehensive Treatise,* vol. 4 (ed. Beckker F. F.), Plenum, New York, 1975, pp. 237—258.

ALTMEIER W. A., *The significance of infection in trauma,* Bull. Amer. Coll. Surg., 1972, *7*, 7.

ALVARADO, LUTHRINGER D. G., Clin. Pediat., *10*, 174.

AMERY W. K., *The mechanism of action of levamisole : restoration through enhanced cell maturation,* J. Reticuloendothel. Soc., 1978, *24*, 187—193.

AMOS D. B., WARD F. E., *Immunogenetics of the HL—A system, Physiol.* Rev., 1975, *55*, 206.

ANDERSSON J., SJÖBERG O., MÜLLER, G., *Induction of immunoglobulin and antibody synthesis in vitro with lipopolysaccharides,* Europ. J. Immunol., 1972, *2*, 349.

ANDERSSON J., MELCHERS F., GALANOS C., LÜDERITZ O, *The mitogenic effect of lipopolysaccharide on bone marrow-derived mouse lymphocytes,* J. Exp. Med., 1973, *137*, 943—953.

AFINSEN C. B., *Human Interferon,* Interdiscipl. Sci. Rev., 1981, *6*, 110.

ANGELESCU M., *Folosirea rațională a antibioticelor,* Edit. medicală, București, 1976.

Scanned with OKEN Scanner

CUTHBERTSON D., TILTSTONE W. J., GREEN J. A., *Immunoglobulins in injured patients*, Lancet, 1960, *1*, 987.

DAUSSET J., *HL-A and Disease*. First International Symposium, Copenhagen, Munksgaard, 1976.

DAVIDSON A.I.G., CLARK C., SMITH G., *Postoperative wound infection : a computer analysis*, Brit. J. Surg., 1971, *58*, 333.

DAVIES M., SABBADINI E., *Effect of BCG on alloimmune cell-mediated cytotoxicity in mice*, J. Natl. Cancer Inst., 1978, *60*, 1059.

DAVIS B. D., DULBECCO R., EISEN H. M., GINSBERG H. S., *Microbiology*, 3rd edition, Harper and Row Publish., Hilversum, 1980.

DHILLON K. S., MACLEAN L. D., MEAKINS J. L., *Neutrophil function in surgical patients : correlation of neutrophil bactericidal function, serum albumin and sepsis*, Surg. Forum 1975, *26*, 27.

DONOVAN A. J., *The effect of surgery on reticulo-endothelial function*, Arch. Surg., 1967, *94*, 247.

DONOVAN C. A., *The influence of diethyl-ether inhalation on experimental canine distemper*, Vet. Med. Small Anim. Clin., 1968, *63*, 345.

DOUGHERTY T. F., FRANCK J. A., *The quantitative and qualitative responses of blood lymphocytes to stress stimuli*, J. Lab. Clin. Med., 1953, *42*, 530.

DRAGOMIRESCU M., NOVAC E., BUZINSCHI S., *Patogenia infecțiilor*, Edit. Facla, Timișoara, 1980.

DRESSER D. W., *Tolerance*, Brit. Med. Bull., 1976, *32*, 2.

DUNCAN P. G., MATHIEU A., MATHIEU D., *Effect of anesthesia and surgery on mechanisms of immune defense*. In : *Infection and the Perioperative Period* (eds Mathieu A., Burke J. F.), Grune & Stratton, New York, 1982, pp. 37—64.

DUTTON R. W., CAMPBELL P., CHAN E., HIRST J., *Cell cooperation during immunologic responses of isolated lymphoid cells*. In : *Cellular Interactions in the Immune Response*, Karger, Basel, 1971.

ELSON C. J., SULLIVAN C. P., *Suppressor mechanisms controlling lymphocyte recruitment*, Immunol., 1977, *33*, 369.

ESPANOL T., TODD G. G., SOOTHILL J. F., *The effect of anesthesia on the lymphocyte response to phytohaemagglutinin*, Clin. Exp. Immunol., 1974, *18*, 73.

FAST L. D., HANSEN J. A., NEWMAN W., *Evidence for T cell nature and heterogenicity within natural killer (NK) and antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) effectors : a comparison with cytolytic T lymphocytes (CTL)*, J. Immunol., 1981, *127*, 448.

FEARON T. H., DAHA M. R., WEILER J. M., AUSTEN K. F., *The natural modulation of the amplification phase of complement activation*, Transplant. Rev., 1976, *32*, 12.

FELDMANN M., BEVERLY P. C. L., WOODY J., MCKENZIE I. F. C., *T—T cell interactions in the function of suppressor and helper T cells*, J. Exp. Med., 1977, *145*, 793.

FILIPESCU Z., MUSTĂȚEA N., BRICIU R., *Înlocuitori coloidali de plasmă. Preparate de dextran și gelatină*, Edit. medicală, București, 1978.

FINE J., *Ciba Symposium*, Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg-Stockholm, 1962.

FORBES A. R., *Halothane depresses monociliary flow in the trachea*, Anesthesiol., 1976, *45*, 59.

Scanned with OKEN Scanner

N. RADU și C. VOICULESCU
Probleme de imunopatologie chirurgicală
(Problems of Surgical Immunopathology)
Editura Academiei Republicii Socialiste România, București, 1984, 232 p.

With the aim of offering surgery and intensive-care specialists a theoretical and practical guide to the various problems of immunology and immunopathology practitioners are frequently confronted with, the authors have put together in this book three main sections : Basic problems of immunology and immunopathology ; Immunopathology referred to surgery ; Addendum of techniques.

Section one (*Basic problems of immunology and immunopathology*) starts by synthetically presenting the most recent data bearing upon the nonspecific defense through local or systemic factors, and upon specific (immune) defense. Within the framework of this broad subchapter, the types of immune response, the dynamics of this latter within systemic and local immunity, the basic features of immunity (recognition, specificity and immune memory) are defined in the first place. A special part is devoted to immune response stimulation either by antigens or, nonspecifically, by immune adjuvants.

Upon dealing with the problems of humoral immune response, the basic characteristics of this form of specific defense, the general structure and classes of immunoglobulins, the dynamics of these latter in the course of systemic or local immune response, as well as the theories on antibody formation are schematically reviewed.

To the notion concerning humoral immunity, some methodological principles of humoral immunity assaying through antigen-antibody reactions of major importance to human clinics are finally added.

The subchapter devoted to the cellular immune response deals with the basic traits of this latter (special emphasis being laid on the effector link : lymphokine-secreting T lymphocytes), as well as with the assay methodology.

Further on the main cellular sequences of immunity are figured, pointing out to the role of T and respectively B lymphocytic

systems, as well as to their cooperation. Within this subchapter, special reference is made to the elaboration by T immunomodulating lymphocytes of the soluble helper or suppressor factors, and to natural cytotoxicity elicited by natural-killer cells.

The subchapter of general immunopathology also overviews the theoretical aspects, clinical manifestations and assaying modalities of some more frequently encountered immunopathological conditions, such as : immunotolerance, immunosuppression, primary and secondary immunodeficiencies, autoimmunity, immediate and delayed hypersensitivity.

The first section ends with an ample presentation of immune modulation and immunomanipulation in human clinics.

Section two (*immunopathology referred to surgery*) was conceived per subchapters devoted to the zones of main interest to the surgeon and to the intensive-care practitioner.

Thus, when dealing with the relationship between immune reactivity and surgical operation, the problems of immediate-hypersensitivity reactions against drugs is extensively debated upon, as well as those of surgery- and drug-induced immunosuppressive states. Literature and experimental data obtained by the authors on immunosuppression elicited by the commonly available antibacterial antibiotics are presented in detail.

Another topics approached in this section is related to blood transfusion and to posttransfusional reactions. The main systems of erythrocyte antigens, as well as the methodology of blood compatibility assay before transfusion are given in this subchapter.

A large space is reserved to the major histocompatibility HL—A system. The genetical immunological and immunopathological aspects of this system, as well as the importance of assaying HL—A compatibility when intending to carry out organ grafting are dealt with in this subchapter.

The last subchapter of this section points out to the main positive data and respectively still unelucidated questions focussed upon immunology and immunopathology of cancer.

Section three is an *addendum of laboratory techniques*. The main immunological assays (normal and pathological values also mentioned), which prove very handy even in the mediumly equipped clinical laboratories, are presented. These assays are highly helpful to the surgeon who has to give special interpretation to some immunopathological phenomena met with in surgery.

Scanned with OKEN Scanner

Among these techniques, the following are worth special mention : the methodology of separating the cells implied in the immune response ; humoral-immunity assays (immune electrophoresis ; simple radial immunodiffusion ; disclosing of circulating immune complexes ; evidentiation of serum antinuclear autoantibodies) ; cellular immunity tests (blastic transformation of T lymphocytes ; macrophage-migration inhibition test).

Scanned with OKEN Scanner

Н. РАДУ, К. ВОЙКУЛЕСКУ,
Проблемы иммунопатологической хирургии,
Издательство Академии СРР, Бухарест, 1984, стр. 232

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие 11

1. ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ ИММУНОЛОГИИ 13

1.1. Исторический обзор. Развитие иммунологического мышления . . 13

1.1.1. Период эмпирического подхода 13
1.1.2. Период выдвижения научных гипотез 14
1.1.3. Период учения Пастера 14
1.1.4. Современный период развития иммунологической теории 14
1.1.4.1. Гуморальный иммунитет 14
1.1.4.2. Реакции повышенной чувствительности 15
1.1.4.3. Клеточный иммунитет 16
1.1.4.4. Клеточные основы иммунитета 16
1.1.4.5. Противоопухолевый иммунитет 16
1.1.4.6. Иммунитет гетеротрансплантации 17
1.1.4.7. Явления самоиммунитета 17
1.1.5. Выводы 17

1.2. Неспецифическая защита 19

1.2.1. Неспецифическая защита в местах проникновения . . . 19
1.2.1.1. Механические барьеры 20
1.2.1.2. Химические барьеры 20

1.2.2. Факторы неспецифической системной защиты 21
1.2.2.1. Системные гуморальные факторы неспецифической защиты 21
Основные полипептиды 21 ✧ Спленоцитин 21 ✧ Бета-лизины 21 ✧ Инфекционный стресс 21 ✧ Интерферон 21 ✧ Эстрогенные гормоны 22 ✧ Система дополнения 22
1.2.2.2. Клеточные факторы системной неспецифической защиты 22
Воспаление 24 ✧ Фагоцитоз 25

Scanned with OKEN Scanner

1.3. **Специфическая (иммунная) защита** 27
1.3.1. Общие сведения об иммунном ответе 27
1.3.1.1. Типы иммунного ответа 28
1.3.1.2. Динамика иммуного ответа 28
Первичный ответ 28 ✧ Вторичный ответ 29
1.3.1.3. Основные особенности иммунного ответа 29
1.3.2. Стимулирование иммунного ответа. 30
1.3.2.1. Антигены. Антигеницитность 30
Условия иммуногенности 31 ✧ Классификация антигенов 33
1.3.2.2. Иммунодополнители 34
Механизмы действия 34
1.3.3. Гуморальный иммунный ответ 35
1.3.3.1. Основные характеристики 35
1.3.3.2. Структура иммуноглобулинов 35
Общая модель структуры иммуноглобулинов 35 ✧ Классы иммуноглобулин 37 ✧ Структурные вариации иммуноглобулинов, коррелированные со специфичностью антител 40
1.3.3.3. Биосинтез и катаболизм иммуноглобулин 42
Биосинтез иммуноглобулин 42 ✧ Катаболизм иммуноглобулин 42
1.3.3.4. Динамика иммуноглобулин в гуморальном иммунном ответе 43
Системный гуморальный иммунитет 43 ✧ Местный гуморальный иммунитет 44
1.3.3.5. Теории о формировании антител 44
1.3.3.6. Тестация гуморального иммунитета 45
Методологические принципы реакций антиген-антитело 45 ✧ Типы реакций антиген-антитело 46
1.3.4. Клеточный иммунный ответ 48
1.3.4.1. Фундаментальные аспекты 48
Вызывающие антигены 48 ✧ Локализация антигена 48 ✧ Исполняющее звено 48 ✧ Место иммунного конфликта 49
1.3.4.2. Механизмы клеточного иммунитета 49
Лимфокины, действующие на лимфоците 49 ✧ Лимфокины, действующие на макрофаге 50 ✧ Химитактические факторы 51 ✧ Дермореактивные факторы 51
1.3.4.3. Тестация клеточного иммунитета 51
Тесты *in vivo* для оценки клеточного иммунитета 51 ✧ Тесты *in vitro* для оценки клеточного иммунитета 52
1.3.5. Клеточные основы гуморального и клеточного иммунного ответа 54

Scanned with OKEN Scanner

1.3.5.1. Клеочные типы, участвующие в иммунный ответ 54
Тимусо- и бурсальнозависимые системы. Лимфоциты Т и Б 54 ✧ Изменения лимфоцитов Т и Б в процессе иммунного ответа 57 ✧ Популяции и подпопуляции клеток 59
1.3.5.2. Клеточные взаимодействия в иммунном ответе 62
Взаимодействия между макрофагом и лимфоцитом 62 ✧ Взаимодействия между макрофагом и гранулоцитом 64 ✧ Взаимодействия между различными лимфоцитарными популяциями и подпопуляциями 65 ✧ Роль клеток К и NC (NK)) 65 ✧ Роль «нулевых» лимфоцитов 66
1.3.6. Иммуноустойчивость 67
1.3.6.1. Аспекты иммуноустойчивости 67
Физиологическая иммуноустойчивость (самоустойчивость) Природная овечья инфекция вирусом лимфоцитарного кориоменингита 67 ✧ Экспериментальная иммуноустойчивость (вызванная) 67 ✧ Иммунный «паралич» 68
1.3.6.2. Механизмы иммуноустойчивости 68
Физиологическая иммуноустойчивость (самоустойчивость) 68 ✧ Природная овечья инфекция вирусом лимфоцитарного кориоменингита 68 ✧ Экспериментальная (вызванная) иммуноустойчивость 68 ✧ Иммунный «паралич» 69
1.3.7. Иммуноподавление. Агенты иммуноподавления 69
1.3.8. Состояния иммунонедостаточности 69
1.3.8.1. Классификация 70
Виды первичной иммунонедостаточности 70 ✧ Виды вторичной иммунонедостаточности 71
1.3.8.2. Лечение иммунонедостаточности 71
1.3.9. Самоиммунитет 72
1.3.9.1. Классификация самоиммунных болезней 72
Самоиммунные болезни, специфичные для одного органа 72 ✧ Самоиммунные болезни, преобладающие в определенных зонах организма 72 ✧ Самоиммунные болезни, неспецифические для определенного органа (диффузные) 72
1.3.9.2. Механизмы самоиммунитета 72
Изменение антигена *self* к *non-self* 72 ✧ Изменение лимфоцитарного ситуса опознования 73 ✧ Нарушение равновесия иммуномоделирующих лимфоцитов Т 73
1.3.9.3. Тестация самоиммунных процессов 73
Тесты самоиммунитета по гуморальной линии 73 ✧ Тестация самоиммунитета по клеточной линии 73
1.3.9.4. Практическое значение самоиммунитета 74
1.3.10. Состояния повышенной чувствительности 74
1.3.10.1. Незамедлительная повышенная чувствительность типа I (атопическая или анафилактическая) 75

Scanned with OKEN Scanner

1.3.10.2. Незамедлительная повышенная чувствительность типа II (цитотоксическая, независимая от дополнения) 77
1.3.10.3. Незамедлительная повышенная чувствительность типа III (посредством циркулирующих иммунных комплексов) 79
1.3.10.4. Замедленная повышенная чувствительность, типа IV 81
1.3.11. Манипулирование иммунного ответа 83
1.3.11.1. Иммуноманипулирование посредством действия агентов иммуноподавления в самоиммунных болезнях или состояниях немедленной повышенной чувствительности 84
Общие принципы относительно применения иммуноподавляющей терапии 84 ✧ Иммуноподавляющие иммуномодуляторы с повседневным применением в клинике . . 85
1.3.11.2. Иммуноманипулирование посредством дополняющих факторов при раковой болезни или других состояний вторичной иммунонедостаточности 89
Бактерийные иммунодополнители 90 ✧ Экстракты тимуса 94 ✧ Химические (синтетические) иммунодополнители 95 ✧ Интерферон 96

2. ИММУНОПАТОЛОГИЯ, СВЯЗАННАЯ С ХИРУРГИЧЕСКОЙ ОБЛАСТЬЮ 99

2.1. Иммунореактивность и хирургическое вмешательство 99

2.1.1. Реакции немедленной повышенной чувствительности относительно медикаментов 99
2.1.1.1. Клинические аспекты 99
Анафилактический шок 101 ✧ Синдром болезни сыворотки 102 ✧ Кутикулярные проявления 103 ✧ Гематологические проявления 103 ✧ Васкулит и повреждения соединительной ткани 104 ✧ Гепатические повреждения 105 ✧ Жар 106 ✧ Нефропатия 106 ✧ Лимфаденопатия 107 ✧ Легочные проявления 107 ✧ Кардиопатия 108
2.1.1.2. Механизмы проявления 108
Факторы, связанные с антигеничностью медикамента 108 ✧ Факторы, связанные с сенсибилизированным организмом 112
2.1.1.3. Диагноз состояний повышенной чувствительности к медикаментам 116
Анамнез 116 ✧ Кутикулярные тесты 116 ✧ Сывороточные тесты 117 ✧ Освобождение от гистаминных продуктов (сосудоактивных аминов) 117 ✧ Лимфоцитарные реакции для обнаружения замедленной повышенной чувствительности 117 ✧ Тесты возбуждения 118
2.1.1.4. Лечение состояний повышенной чувствительности к медикаментам 113

Scanned with OKEN Scanner

2.1.2. Состояния иммунноподавления, связанные с хирургическим вмешательством и адекватной медикаментацией 119
2.1.2.1. Иммунноподавление, вызванное послеоперационной реакцией 119
Изменения неспецифических и специфических механизмов иммунной защиты 121 ✧ Последствия эндокриновегетативной реакции на иммунный ответ 122 ✧ Последствия анестезии на иммунную реакцию 124« ✧ Послеоперационное иммуноподавление и ее последствия на частоту послеоперационных инфекций 128 ✧ Недоедание — благоприятствующее условие в снижении иммунитарной способности 131
2.1.2.2. Вызванное антибиотическое иммуноподавление . . 134
Неспецифическое торможение лимфоцитарного бластического преобразования 135 ✧ Подавление синтеза лимфоцитарных нуклеиновых кислот 135 ✧ Негативация тестов с гуморальным или клеточным иммунитетом 136
2.1.2.3. Иммуноподавление, связанное с послеоперационным администрированием цитостатических веществ или с радиумтерапией 139
2.1.2.4. Иммуноподавление, вызванное послеоперационными инфекциями 140

2.2. Переливание крови и послетрансфузионные реакции 141

2.2.1. Системы эритроцитарных антиген 141
2.2.1.1. Системы АВО 141
Характеристики 141 ✧ Антитела и аглютинины 142 ✧ Общие антигены АВО 143 ✧ Группирование индивидуумов в рамках системы АВО 145 ✧ Расхождения в определении групп крови в системе АВО 145
2.2.1.2. Система Rh 147
Основная система Rh 147 ✧ Антигены Rh 148 ✧ Группирование индивидуумов в системе Rh 150
2.2.1.3. Другие системы эритроцитарных антиген 150
2.2.2. Методологические принципы для определения эритроцитарных антигенов 151
2.2.3. Послетрансфузионные реакции несовместимости по факторам группы крови 152

2.3. Главный комплекс гистосовместимости. Иммунология и иммунопатология пересадок 160

2.3.1. Главный комплекс гистосовместимости (ГКГ) 160
2.3.1.1. ГКГ у мышей: система H-2 160
2.3.1.2. ГКГ у человека: структура и функции системы HL-A 160

Scanned with OKEN Scanner

Фундаментальные генетические аспекты 161 ✧ Генетика системы HL-A 162 ✧ Функции системы HL-A 164 ✧ Определение (тестация) типа HL-A у человека 165

2.3.1.3. Иммунология и иммунопатология главного комплекса гистосовместимости у человека 166

Пересадки и явление отталкивания трансплантата 166 ✧ Система HL-A и раковая болезнь 170 ✧ Соотношение между системой HL-A и инфекциями 171 ✧ Система HL-A и атопические болезни 171 ✧ Система HL-A и самоиммунные болезни 172 ✧ Система HL-A и недостаточность сывороточного комплемента 172 ✧ Система HL-A и группы крови 172

2.4. Иммунология и иммунопатология раковой болезни 173

2.4.1. Опухолевые антигены 173

2.4.1.1. Антигены, вызванные *de novo* онкогенным агентом . 173

2.4.1.2. Анцестральные антигены, проявившиеся вновь одновременно с канцеризацией 174

2.4.2. Противораковый иммунитет 175

2.4.2.1. Гуморальный иммунитет ... 175

2.4.2.2. Клеточный иммунитет 175

2.4.2.3. Деятельность клеток К 177

2.4.2.4. Деятельность клеток NK и NC 177

2.4.3. Соотношение рак — иммунонедостаточность 179

2.4.3.1. Рак вызывает вторичные иммунонедостаточности 179

2.4.3.2. Рак более чаще появляется у индивидуумов с первичной или вторичной иммунонедостаточностью 180

2.4.3.3. Иммунонедостаточная роль фацилитантных противоопухолевых антител 180

2.4.3.4. Альфафетопротеин 180

2.4.4. Иммунотерапия рака 181

2.4.4.1. Карциноэмбрионарный антиген, связанный с гриппозным вирусом 181

2.4.4.2. Администрирование иммунодополнителей 182

2.4.4.3. Администрирование интерферона 182

2.4.5. Выводы 182

3. ТЕХНИЧЕСКОЕ ПРИЛОЖЕНИЕ. МЕТОДОЛОГИЯ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ 184

3.1. Техника выделения клеток, вовлеченных в иммунный ответ техникой 184

3.1.1. Выделение смеси лимфоцитов Т + В техникой центрифугирования в градиенте плотности 184

3.1.2. Выделение лимфоцитарных популяций и подпопуляций . . 186

3.1.2.1. Техника фильтрации нейлоновой ватой для выделения лимфоцитов Т и В 186

Scanned with OKEN Scanner

3.1.2.2. Выделение и достижение сплошных лимфоцитов Т техникой формирования розеток Т малого сродства . . . 186
3.1.2.3. Выделение и получение подпопуляций вспомогательных лимфоцитов Т техникой формирования розеток Е большого сродства 187
3.1.2.4. Изменения пропорции сплошных лимфоцитов Т и вспомогательных лимфоцитов Т в различных заболеваниях человека 187
Понижение пропорции сплошных и Т вспомогательных лимфоцитов 187 ✧ Изменение пропорции вспомогательных лимфоцитов Т/подавляющие лимфоциты Т с преобладанием вспомогательных лимфоцитов Т 188 ✧ Понижение пропорции сплошных лимфоцитов Т без изменения соотношения вспомогательные лимфоциты Т/подавляющие лимфоциты Т 188

3.2. Тесты гуморального иммунитета 189
3.2.1. Иммуноэлектрофореза 189
3.2.2. Простая радиальная иммунодиффузия 190
3.2.3. Циркулянтные иммунные комплексы 191
3.2.4. Определение криоглобулинемии 192
3.2.5. Антиглобулиновый тест Кумбса 194
3.2.6. Выявление антинуклеарных антител 199
3.2.7. Тест бластического преобразования лимфоцитов В *in vitro* 201

3.3. Тесты клеточного иммунитета 203
3.3.1. Тест специфического бластического преобразования лимфоцитов Т 203
3.3.2. Тест торможения миграции макрофагов 204
3.3.3. Изменение тестов клеточного иммунитета (бластическое преобразование лимфоцитов Т; торможение миграции магрофагов в различных болезнях человека) 205

ЛИТЕРАТУРА 207
СОДЕРЖАНИЕ НА АНГЛИЙСКОМ ЯЗЫКЕ 221

Scanned with OKEN Scanner

Redactor: LUCREȚIA DIPLAN GHEORGHIU
Tehnoredactor: MAGDALENA IACOB

Bun de tipar 11 VIII 1984. Format 16/61×86. Coli de tipar 14,50. Planșe 1. C.Z. pentru biblioteci mari: 616—085—057. C.Z. pentru biblioteci mici: 616—085.

c. 656 — I.P. INFORMAȚIA
str. Brezoianu nr. 23—25
București

Scanned with OKEN Scanner